Проблемы репродукции
2024, Т. 30, №4, с. 51-58
https://doi.org/10.17116/repro20243004151

Russian Journal of Human Reproduction
2024, vol. 30, no.4, pp. 51-58
https://doi.org/10.17116/repro20243004151

Комплексный подход к обследованию эндометрия при повторных неудачах в циклах вспомогательных репродуктивных технологий: пилотное исследование

© Ю.Э. ДОБРОХОТОВА[1], И.А. ЛАПИНА[1, 2], Г.И. ЕЛЧИЕВА[1], В.М. ГОМЗИКОВА[1], Ю.А. СОРОКИН[2], М.А. ТВЕРДИКОВА[2]

[1]ФГАОУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова» Минздрава России, Москва, Россия;
[2]АО «Группа компаний «Медси», Москва, Россия

РЕЗЮМЕ

Несмотря на многочисленные успехи в области репродуктивной медицины, женское бесплодие остается актуальной проблемой в гинекологии. Согласно данным Всемирной организации здравоохранения, в мире доля с бесплодием составляет 17,5%, при этом отсутствует тенденция к снижению данного показателя. Отдельное место в преодолении данной проблемы занимают методы вспомогательных репродуктивных технологий (ВРТ). Однако причины повторных неудачных попыток экстракорпорального оплодотворения до настоящего времени недостаточно изучены. В ряде исследований показано, что маточный микробиом у пациенток с бесплодием и у фертильных женщин имеет существенные различия. В связи с этим актуальным направлением исследований остается изучение влияния биотопа эндометрия на способность имплантации эмбрионов с целью повышение частоты наступления беременности в циклах ВРТ.

Цель исследования. Оценить влияние микробиома эндометрия на исходы программ экстракорпорального оплодотворения (ЭКО) у пациенток с бесплодием и предыдущими неудачными попытками ВРТ.

Материал и методы. Проведено пилотное проспективное одноцентровое нерандомизированное исследование, включившее 22 пациентки репродуктивного возраста (от 18 до 45 лет) с бесплодием и повторными неудачными попытками ЭКО в анамнезе. Все пациентки полностью обследованы в соответствии с приказом Министерства здравоохранения Российской Федерации №803н от 31.07.20 «О порядке использования вспомогательных репродуктивных технологий, противопоказаниях и ограничениях к их применению». Дополнительно выполнена биопсия эндометрия с 15-го по 25-й день менструального цикла с целью оценки микробиома эндометрия методом метагеномного анализа (МЕМА). Распределение пациентов по группам проводилось на основании результатов тестирования: 1-ю группу составили пациентки с преобладанием *Lactobacillus* spp. >90% от общего количества микроорганизмов, 2-ю группу — пациентки с преобладанием условно-патогенной флоры, которым проводилась этиотропная терапия. Конечной точкой нашего пилотного исследования явилась оценка исходов ЭКО.

Результаты. По результатам метагеномного анализа микробиома эндометрия только у 7 (31,8%) из 22 женщин доминировали штаммы *Lactobacillus* spp., у 15 (68,1%) женщин преобладали условно-патогенные микроорганизмы, такие как *Gardnerella, Streptococcus, Atopobium, Prevotella, Enterococcus, Corynebacterium* и другие. Пациенткам данной группы проводили этиологическую терапию антибактериальными препаратами с последующим применением пробиотиков. В результате получены следующие данные: у 6 (85,7%) из 7 женщин 1-й группы наступила беременность после переноса замороженно-размороженного эмбриона, только у 5 (33,3%) из 15 женщин 2-й группы наступила беременность после рекомендованного лечения.

Заключение. У женщин с бесплодием и повторными неудачными попытками ЭКО чаще наблюдается «нелактобациллярный» маточный микробиом. У женщин с преобладанием бактерий рода *Lactobacillus* spp. в микрофлоре эндометрия отмечаются более благоприятные исходы применения методов ВРТ. Проведение этиотропной антибактериальной терапии и дотация пробиотиков также повышают частоту наступления беременности. Однако требуются крупномасштабные исследования в этой области с увеличением выборки пациентов.

Ключевые слова: *микробиом эндометрия, лактобациллы, бесплодие, экстракорпоральное оплодотворение, ЭКО, рецептивность.*

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ:
Доброхотова Ю.Э. — https://orcid.org/0000-0002-7830-2290
Лапина И.А. — https://orcid.org/0000-0001-9680-4887
Елчиева Г.И. — https://orcid.org/0009-0002-1330-0451
Гомзикова В.М. — https://orcid.org/0000-0001-6297-8811
Сорокин Ю.А. — https://orcid.org/0000-0001-9305-323X
Твердикова М.А. — https://orcid.org/0000-0003-0462-2838
Автор, ответственный за переписку: Лапина И.А. — e-mail: doclapina@mail.ru

КАК ЦИТИРОВАТЬ:
Доброхотова Ю.Э., Лапина И.А., Елчиева Г.И., Гомзикова В.М., Сорокин Ю.А., Твердикова М.А. Комплексный подход к обследованию эндометрия при повторных неудачах в циклах вспомогательных репродуктивных технологий: пилотное исследование. *Проблемы репродукции*. 2024;30(4):51–58. https://doi.org/10.17116/repro20243004151

An integrated approach to endometrial examination in case of repeated failures in ART cycles: a pilot study

© YU.E. DOBROKHOTOVA[1], I.A. LAPINA[1, 2], G.I. ELCHIEVA[1], V.M. GOMZIKOVA[1], YU.A. SOROKIN[2], M.A. TVERDIKOVA[2]

[1]Pirogov Russian National Research Medical University, Moscow, Russia;
[2]Medsi Clinical Diagnostic Center on Solyanka, Moscow, Russia

ABSTRACT

Background. Female infertility is still an actual issue in gynecology, despite the numerous advances in reproductive medicine. According to the World Health Organization, 17.5% of couples suffer from infertility. At the same time, there is no tendency for this indicator to decrease. A special place in the solution of this problem is occupied by the methods of the assisted reproductive technologies (ART). However, the reasons for repeated unsuccessful attempts of in vitro fertilization have not yet been sufficiently studied. A number of studies have shown that the uterine microbiome of infertile and fertile women differs significantly [1, 2]. In this connection, the study of the influence of the endometrial biotope on embryo implantation ability in order to increase the pregnancy rate in ART cycles remains an urgent issue.

Aim. To assess the influence of the endometrial microbiome on the outcome of in vitro fertilization (IVF) programs in patients with infertility and previous failed attempts of assisted reproductive technologies.

Patients and methods. A pilot prospective pilot prospective single-center non-randomized study including 22 patients of reproductive age (18 to 45 years) with infertility and repeated failed IVF attempts in history was conducted. All patients were fully examined in accordance with Order No. 803n of 31.07.20 «On the procedure for the use of assisted reproductive technologies, contraindications and limitations to their use». Additionally, from the 15th to the 25th day of the menstrual cycle was performed an endometrial biopsy in order to assess the endometrial microbiome by metagenomic analysis (MEMA). The distribution of patients into groups was carried out on the basis of test results: the first group consisted of patients with a predominance of Lactobacillus>90% of total microorganisms, and the second group consisted of patients with a predominance of pathogenic flora who were treated with etiotropic therapy. The final point of our pilot study was to evaluate the results of in vitro fertilization.

Results. According to the results of the metagenomic analysis of the endometrial microbiome of 22 women, only 7 (31.8%) were dominated by Lactobacilli strains, 15 (68.1%) women were dominated by opportunistic microorganisms such as Gardnerella, Streptococcus, Apotobium, Prevotella, Enterococcus, Corynebacterium and others. This group of patients, underwent etiological therapy with antibacterial drugs followed by probiotics was carried out. As a result, the following data were obtained: in group 1, 6 (85.7%) out of 7 women became pregnant after frozen-thawed embryo transfer, in group 2, only 5 (33.3%) out of 15 women became pregnant after the recommended treatment.

Conclusions. Women with infertility and repeated failed IVF attempts more often have a «non-lactobacillus» uterine microbiome. In the group with a predominance of Lactobacillus bacteria in the endometrial microflora, more favourable IVF outcomes are observed. Etiotropic antibiotic therapy and probiotic supplementation also increase pregnancy rates. However, given the small number of patients, large-scale studies are needed in this area.

Keywords: *microbiome of the endometrium, lactobacilli, infertility, IVF, receptivity.*

INFORMATION ABOUT THE AUTHORS:
Dobrokhotova Yu.E. — https://orcid.org/0000-0002-7830-2290
Lapina I.A. — https://orcid.org/0000-0001-9680-4887
Elchieva G.I. — https://orcid.org/0009-0002-1330-0451
Gomzikova V.M. — https://orcid.org/0000-0001-6297-8811
Sorokin Yu.A. — https://orcid.org/0000-0001-9305-323X
Tverdikova M.A. — https://orcid.org/0000-0003-0462-2838
Corresponding author: Lapina I.A. — e-mail: doclapina@mail.ru

TO CITE THIS ARTICLE:
Dobrokhotova YuE, Lapina IA, Elchieva GI, Gomzikova VM, Sorokin YuA, Tverdikova MA. An integrated approach to endometrial examination in case of repeated failures in ART cycles: a pilot study. *Problemy Reproduktsii (Russian Journal of Human Reproduction).* 2024;30(4):51–58. (In Russ.). https://doi.org/10.17116/repro20243004151

ВВЕДЕНИЕ

Актуальной проблемой современной гинекологии остается вопрос влияния микробиома эндометрия на репродуктивный потенциал женщин. В ряде исследований показано, что маточный микробиом у пациенток с бесплодием и у фертильных женщин имеет существенные различия [1, 2]. С одной стороны, полость матки длительное время считалась стерильной благодаря ряду защитных механизмов, которые предотвращают попадание микроорганизмов в верхние отделы женских половых путей [3]. Однако современные исследования полностью изменили данную точку зрения. Термин «микробиом» первоначально определен J.M. Whipps и соавт. как «характерное микробное сообщество, занимающее достаточно хорошо определенную среду обитания, которая имеет определенные

физико-химические свойства» [4]. Микробиом определяется как коллективные геномы этих микробов [5, 6], которые, в свою очередь, выполняют местные иммунные, метаболические функции и участвуют в эпителизации [7]. Нарушения регуляции приводят к дисбиозу, который определяется как дисбаланс или изменение микробиома.

В частности, определенный интерес представляет присутствие микроорганизмов в эндометрии, где микроорганизмы с низкой биомассой могут воздействовать на местную иммунную среду в полости матки [8]. В ряде исследований показано, что дисбиотические процессы в эндометрии могут приводить к развитию гиперпластических процессов, однако молекулярные механизмы, способствующие нарушению тканевого и клеточного гомеостаза, изучены недостаточно [9, 10].

Отдельно ведутся исследования взаимосвязи маточного микробиома и миомы матки. Установлено, что в видовом составе микрофлоры эндометрия преобладают *Lactobacillaceae, Staphylococcaceae и Enterobacteriaceae*, однако эти изменения носят неспецифический характер [11, 12].

Кроме того, преобладание условно-патогенных микроорганизмов в эндометрии может оказывать негативное воздействие на процесс имплантации эмбриона и в дальнейшем на формирование плаценты. Все это потенциально влияет на фертильность и развитие акушерских осложнений в более поздние сроки гестации [13]. В ряде исследований доказана взаимосвязь между нарушением микробиома в полости матки и развитием хронического эндометрита, частота которого, по данным разных авторов, колеблется от 2,8 до 68%. Хронический эндометрит является одной из причин невынашивания беременности и неудачных попыток программ вспомогательных репродуктивных технологий (ВРТ) [14].

Для обнаружения бактерий традиционно применяются культуральные методы, которые в основном используются в диагностике воспалительных процессов внутренних половых органов. Однако культуральных методов недостаточно для точной качественной и количественной характеристики всех видов бактерий в микробиоме. Как правило, доминируют быстрорастущие аэробные виды, в то время как медленно растущие бактерии, требующие специфических условий, при культуральном методе не обнаруживаются.

В настоящее время микробиом женских половых органов анализируют с помощью метода секвенирования нового поколения (NGS), основанного на анализе гипервариабельных (V) областей гена бактериальной 16S рибо-сомальной рибонуклеиновой кислоты (рРНК) или секвенирования всего метагенома (WMS). Секвенирование всего генома (WGS) дает возможность изучить не только интересующие геномы, но и все бактериальные геномы, функции различных генов, а также метаболические взаимосвязи [15].

По данным исследований последних лет, нет однозначно установленной причины появления микроорганизмов в полости матки. Однако рассмотрены различные пути, включая проникновение бактерий через шейку матки, ретроградное распространение через маточные трубы, гематогенное распространение бактерий из полости рта и/или кишечника, во время гинекологических процедур (например, введение/удаление внутриматочных спиралей) и/или со спермой, вследствие сексуальных привычек [16]. При выявлении причин бесплодия в практике гинекологов часто проводятся такие манипуляции, как гистеросальпингография и гистероскопия, что также может стать причиной повышения общей бактериальной обсемененности полости матки [17].

На современном этапе профильное профессиональное сообщество не пришло к единому выводу о видовом составе микробиома эндометрия, необходимого для успешной имплантации эмбриона [18]. В ряде работ показано, что у фертильных женщин эндометрий, как и влагалище, в основном колонизирован микроорганизмами рода *Lactobacillus* [8]. Согласно данным I. Moreno и соавт., микробиом эндометрия с преобладанием «нелактобацилл» (определяемый как <90% *Lactobacillus* spp.) ассоциируется со значительным снижением имплантации, вероятности наступления беременности и числа живорождений в циклах ВРТ [2, 19].

Цель исследования — оценить влияние микробиома эндометрия на исходы программ экстракорпорального оплодотворения (ЭКО) у пациенток с бесплодием и предыдущими неудачными попытками ВРТ.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Нами проведено пилотное рандомизированное проспективное исследование, включившее 22 пациентки, получавших лечение в отделении ВРТ.

Критерии включения в исследование: возраст пациенток от 18 до 45 лет, верифицированный диагноз бесплодие, неудачные попытки ЭКО более одного раза, нормальный овариальный резерв (уровень антимюллерового гормона >1,2 нг/мл, количество антральных фолликулов по данным трансвагинального ультразвукового исследования (УЗИ) более 5 суммарно в обоих яичниках.

Критерии исключения: возраст женщины младше 18 и старше 45 лет, патология эндометрия, применение антибактериальной терапии в течение 3 месяцев, отказ пациентки от участия в исследовании.

Перед началом исследования все пациентки подписывали информированное добровольное согласие. Предварительное обследование проводили с использованием общеклинических и специальных методов исследования по стандартной методике в соответствии с приказом Министерства здравоохранения Российской Федерации №803н от 31.07.20 «О поряд-

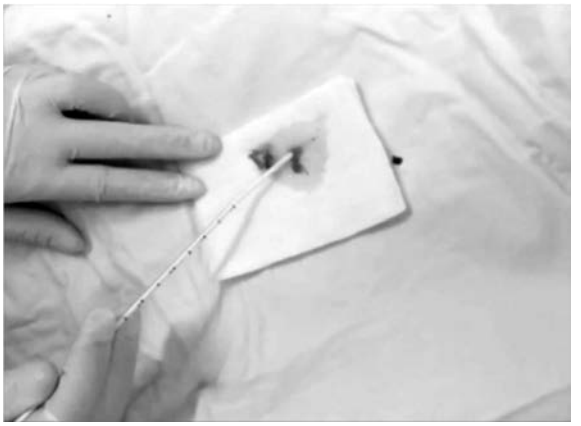

***Рис. 1.* Образец механизма обработки полученного материала из полости матки.**

***Fig. 1.* Sample processing mechanism for material obtained from the uterine cavity.**



***Рис. 2.* Образец механизма обработки полученного материала из полости матки (продолжение).**

***Fig. 2.* Sample processing mechanism for material obtained from the uterine cavity (continuation).**

ке использования вспомогательных репродуктивных технологий, противопоказаниях и ограничениях к их применению».

В рамках исследования произведена аспирационная биопсия эндометрия с 15-го по 25-й день менструального цикла. Метагеномный анализ микробиома эндометрия является современным генетическим исследованием, позволяющим дать качественную и количественную оценку микроорганизмов, населяющих ткани эндометрия, изучить их взаимодействие и оценить микробное сообщество.

Особенность забора материала для метагеномного анализа состоит в отборе образца тканей, не загрязненных кровью, и их перенос стерильным пинцетом в специальную пробирку с транспортной средой **(рис. 1, 2)**.

Образцы ткани эндометрия, помещенные в консервационный буфер, стабильны при комнатной температуре +20—22 °С до 5—7 дней, рекомендованная температура при транспортировке в лабораторию +4—8 °С.

Материал для исследования подготавливали и выделяли из эндометрия набором QIAamp DNA Investigator Kit («Qiagen GmbH», Германия), номер ID: 56504, по протоколу производителя с модификациями и перемещали с помощью пинцета и скальпеля в заранее подготовленные микроцентрифужные пробирки объемом 1,5 мл. Далее добавляли 180 мкл буфера ATL и 20 мкл протеиназы К, после чего перемешивали вортексированием и откручивали на микроспине для осаждения капель. Пробирки со смесью помещали в термошейкер и инкубировали при 56 °С в течение 24 ч, затем образцы инкубировали при 90 °С в течение 30 мин.

После инкубации к образцам по очередности добавляли 200 мкл буфера AL и 200 мкл EtOH (96—100%), на каждом этапе смесь перемешивали пульсационным способом в течение 15 с. После образцы инкубировали в течение 5 мин при комнатной температуре.

Полученный лизат переносили на колонку с пробиркой для сбора образцов, после чего центрифугировали при 8000 об/мин в течение 1 мин. Далее колонку переносили в чистую пробирку для сбора. Следующий этап состоял из трех последовательных промывок буферами AW1, AW2 и EtOH (96—100%). В колонку вносили 500 мкл буфера AW1, после 700 мкл буфера AW2 и для финальной промывки использовали 700 мкл этилового спирта. На каждом этапе промывки колонки центрифугировали при 8000 об/мин в течение 1 мин и переносили в чистую пробирку для сбора.

После ПЦР проводили чистку продукта с помощью магнитных частиц KAPA Pure Beads. К продукту добавляли 20 мкл частиц комнатной температуры и инкубировали 5 мин вне магнитного штатива. Далее образцы помещали на магнитный штатив на 5 мин, после инкубации удаляли супернатант с последующими 2 промывками в 180 мкл 80% EtOH. Контроль качества индексированных библиотек проводили с помощью Qubit dsDNA BR Assay Kit и LabChip GX Touch HT Nucleic Acid Analyzer.

Филогенетический состав бактериальных сообществ на разных таксономических уровнях определяли в ходе сравнения нуклеотидных последовательностей 16S рРНК с эталонными последовательностями рРНК из базы данных SILVA (база обновленная) с использованием функции «assignTaxonomy» пакета dada2.

На основании относительной количественной оценки разных типов микроорганизмов, находящихся в образце, сформированы две исследовательские группы сравнения: 1-я группа (n=7) — пациентки с преобладанием *Lactobacillus* spp. (более 90% от общей бактериальной массы), 2-я группа (n=15) — паци-

Данные и результаты исследуемых пациенток

Data and results of the studied patients

Количество бактерий	*Lactobacillus* spp. >90%	*Lactobacillus* spp. <90%
Количество пациенток, *n* (%)	7 (31,8)	15 (68,2)
Средний возраст пациенток, лет	32,71±3,9	34,93±3,43
Продолжительность бесплодия, годы	5,57±2,77	6,73±1,7
Количество предыдущих попыток ЭКО	3±0,84	3,66±0,78
Клиническая беременность после переноса эмбриона	6 (85,7)	5 (33,3)
Наступление беременности после 1-го цикла лечения с антибактериальной терапией в программах ЭКО, *n* (%)	—	1 (6,67)
Наступление беременности после 2-го цикла лечения с антибактериальной терапией в программах ЭКО, *n* (%)	—	3 (20)

ентки с преобладанием других штаммов. Пациенткам 2-й группы проведена этиотропная антибактериальная терапия с дотацией пробиотиков и последующим контролем проводимого лечения. На следующем этапе выполнен криоперенос эмбриона всем пациенткам. Основным прогностическим критерием явилось наступление клинической беременности у пациенток каждой из исследуемых групп.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Возраст пациенток, включенных в исследование, не различался между исследуемыми группами и колебался от 26 до 40 лет (средний возраст 34,22±3,78 года). Средний возраст пациенток 1-й группы составил 32,71±3,9 года, 2-й группы — 34,93±3,43 года. Среднее количество предыдущих попыток ЭКО составило 3,45±0,83, по группам 3±0,84 и 3,66±0,78 соответственно. Продолжительность бесплодия (как первичного, так и вторичного) у пациенток обеих группах составила 6,36±2,16 года, по группам 5,57±2,77 и 6,73±1,7 года соответственно. Таким образом, оказалось, что у пациенток с нелактобациллярной флорой в полости матки отмечалось более длительное бесплодие и ранее проведено большее количество попыток ЭКО.

Сопутствующая гинекологическая патология — интерстициальная миома матки до 4 см — обнаружена у 8 пациенток при проведении УЗИ органов малого таза, все они относились ко второй группе. Длительность заболевания миомой матки составила в среднем 5,82±2,66 года. Дополнительно проведен расширенный иммуногистохимический анализ рецепторного статуса эндометрия, включающий в себя оценку ER, PR, CD138, CD56, LIF. У 50% из числа обследованных женщин отмечена средняя экспрессия прогестероновых рецепторов и низкая экспрессия эстрогеновых рецепторов, при этом соотношение их количества составило в среднем 5,5±3,45. Как известно, для фертильных женщин этот показатель в среднем составляет от 2 до 4 [20]. Кроме того, следует отметить, что у 2 (25%) пациенток обнаружено более 5 CD-138-позитивных клеток, что свидетельствует о возможном наличии хронического воспалительного процесса. Средний уровень LIF составил 4,5±1,43, таким образом, отмечено уменьшение количество пиноподий в секреторной фазе эндометрия, что также может служить причиной неудачных попыток ЭКО за счет неполноценности рецепторного статуса эндометрия.

Только у 7 (31,8%) из 22 пациенток выявлена флора с доминированием *Lactobacillus* spp. **(см. таблицу)**. Этим пациенткам произведен перенос одного замороженно-размороженного эуплоидного эмбриона (после проведения преимплантационного генетического тестирования) в естественных циклах.

У 15 (68,2%) женщин преобладали условно-патогенные микроорганизмы, такие как *Gardnerella, Streptococcus, Atopobium, Prevotella, Enterococcus, Corynebacterium* и другие.

Преобладающим по количеству условно-патогенных бактерий в полости матки является род *Gardnerella* (у 7 (32%) пациенток) **(рис. 3)**. Присутствие бактерий рода *Gardnerella* связано с нарушением репродуктивной функции, что следует рассматривать как возможную причину неудач имплантации или невынашивания беременности [2]. Следует отметить, что этническая принадлежность пациенток является важным фактором в формировании микробиома эндометрия, поскольку у афроамериканских и латиноамериканских женщин наблюдается тенденция к большей колонизации представителями нелактобацилл, чем у женщин европейского происхождения [19].

Следующей преобладающей группой явились грамположительные бактерии рода *Streptococcus* (у 3 (13,6%) пациенток), что рассматривается как один из основных факторов развития хронического эндометрита. R.L. Fang и соавт. обнаружили, что популяция внутриматочных бактерий у пациенток с хроническим эндометритом более разнообразная, что означает необходимость более пристального внимания к оценке микробиома и последующей тактике ведения [21].

Другими выявленными преобладающими микроорганизмами в исследуемых образцах эндометрия явились *Atopobium* — у 2 (9%) женщин, *Enterococcus* —

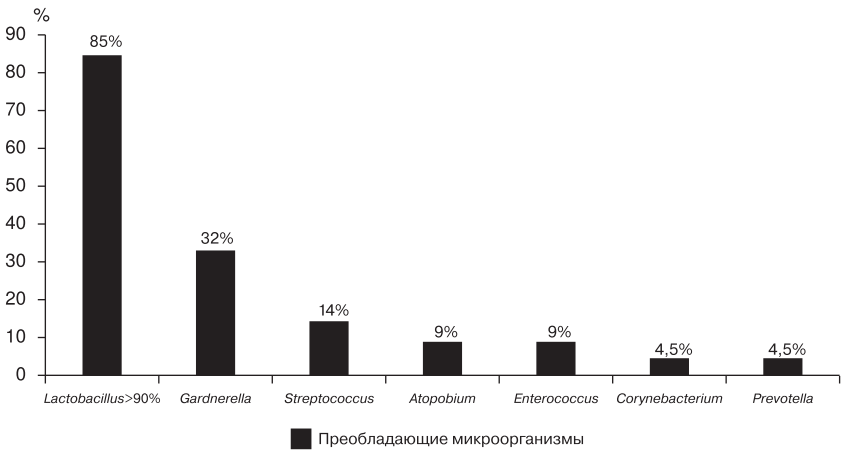

Рис. 3. **Преобладающие микроорганизмы в эндометрии при проведении метагеномного анализа.**
Fig. 3. **Prevalent microorganisms in the endometrium in metagenomic analysis.**

у 2 (9%), *Corynebacterium* — у 1 (4,5%), *Prevotella* — у 1 (4,5%).

После получения результатов метагеномного теста МЕМА пациенткам с преобладанием условно-патогенных микрорганизмов рекомендована этиологическая антибиотикотерапия (Амоксициллин в комбинации с Клавулоновой кислотой в дозе 875 мг + 125 мг 2 раза в сутки 8 дней) с последующим применением пробиотиков *Lactobacillus* spp. в течение 14 дней.

Следует отметить, что у 1 пациентки обнаружено небольшое количество ДНК бактерий с видовым профилем, которой рекомендовано лечение только препаратами пробиотиков, содержащих *Lactobacillus* spp., что также указано в заключении проводимого теста.

Для контроля эффективности восстановления микрофлоры проведено повторное исследование у 14 пациенток, по результатам которого у 9 (64,3%) наблюдался лактобациллярный тип микробиома эндометрия. Остальным пациенткам предложен повторный курс антибактериальной терапии с заменой препарата на Офлоксацин 200 мг 2 раза в сутки 14 дней и Метронидазол 500 мг 2 раза в сутки 7 дней с последующей дотацией пробиотиков. При этом следует отметить, что только у 5 пациенток с миомой маткой удалось достигнуть нормализации маточной микрофлоры.

После проведенного лечения пациенткам выполнен криоперенос в естественном цикле. Пациенткам с «тонким» эндометрием производился перенос одного замороженно-размороженного эуплоидного эмбриона в цикле заместительной гормональной терапии (ЗГТ) по достижении оптимальной толщины по данным УЗИ органов малого таза. ЗГТ проводилась препаратами эстрогенов со 2—3-го дня менструального цикла. Далее с 15-го дня менструального цикла (при толщине эндометрия >7 мм) назначен

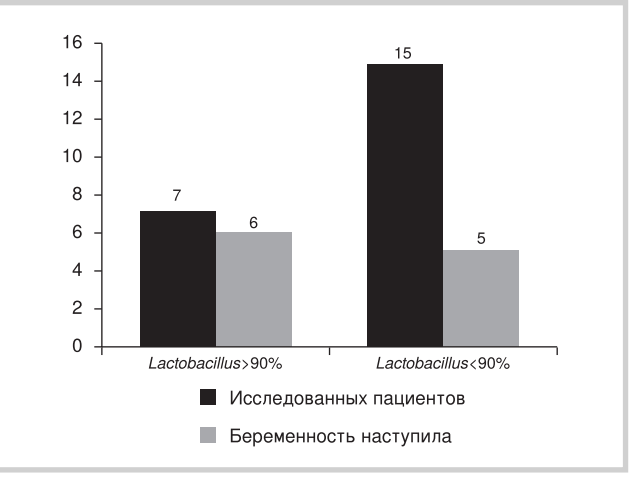

Рис. 4. **Клинические исходы в зависимости от преобладания рода Lactobacillus в микробиоме эндометрия у пациенток с повторными неудачами циклов экстракорпорального оплодотворения.**

Fig. 4. **Clinical outcomes depending on the prevalence of the Lactobacillus genus in the endometrial microbiome in patients with repeated failed IVF cycles.**

ежедневный прием микродозированного прогестерона. На 5-й день приема гестагена произведен перенос эмбриона. В случае благополучного исхода беременности ЗГТ продолжали до 12 недель гестации.

По результатам проведенного исследования у 6 (27,2%) пациенток с преобладанием *Lactobacillus* spp. в эндометрии наступила клиническая беременность после переноса криоконсервированного эуплоидного эмбриона.

После проведенного лечения у 2 (13,3%) из 15 пациенток в следующем цикле наступила беременность, у 3 (20%) пациенток — после второго цикла лечения

со сменой антибактериального препарата с последующим применением пробиотиков. У 10 (66,6%) обследуемых женщин после завершения второго цикла лечения беременность не наступила **(рис. 4)**. На исход данных результатов могли повлиять сопутствующая гинекологическая патология (миома матки), недостаточная рецептивность эндометрия, а также неэффективность проводимой антибактериальной терапии. Необходимы дополнительные исследования в данной области.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Результаты пилотного исследования подтверждают современные представления о важности микробиома эндометрия в процессах имплантации эмбрионов и благоприятных исходах ЭКО [1, 2, 8]. Таким образом, дисбиотические процессы в полости матки могут служить одной из возможных причин снижения частоты наступления беременности у пациенток с бесплодием и повторными неудачами циклов ВРТ [10, 16].

Дополнительным методом обследования данной когорты может стать метагеномный анализ микробиома эндометрия, который предполагает качественную и количественную оценку микроорганизмов и их соотношение. Однако главным недостатком метода является отсутствие оценки чувствительности бактерий к антибактериальным препаратам. С одной стороны, микрофлора эндометрия с доминированием *Lactobacillus* spp. может стать предиктором успешной нидации эмбриона [19]. С другой стороны, преобладание условно-патогенных микроорганизмов таких, как *Gardnerella, Streptococcus, Enterococcus, Atopobium,* могут отрицательно влиять на фертильность, что означает необходимость дальнейшего изучения [2, 19].

Современные подходы к коррекции дисбиоза в полости матки основаны на применении антибактериальных препаратов и дотации пробиотиков, причем в ряде случаев достаточно только изолированного назначения лактобактерий, что может стать основным методом преодоления данной проблемы после подтверждения результатами крупномасштабных исследований.

Кроме того, микробиом эндометрия нельзя оценивать изолированно от структурно-функциональных особенностей эндометрия и его рецептивности, на которые могут влиять и другие факторы, в том числе интерстициальная миома матки [20].

В настоящее время недостаточно опубликованных данных для ответа на вопрос о необходимости дополнительной диагностики и лечения микрофлоры полости матки. Однако этот подход может быть использован в комплексном и персонализированном ведении пациенток с бесплодием и повторными неудачными попытками методов ВРТ для улучшения репродуктивных исходов.

Вклад авторов. Авторы декларируют соответствие своего авторства международным критериям ICMJE. Все авторы в равной степени участвовали в подготовке публикации — это разработка концепции статьи, получение и анализ фактических данных, написание и редактирование текста статьи, проверка и утверждение текста статьи.

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.
The authors declare no conflicts of interest.

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Баринова В.В., Кузнецова Н.Б., Буштырева И.О., Оксенюк О.С., Дудурич В.В., Шаталов А.Е. Микробиом эндометрия при многократных неудачах вспомогательных репродуктивных технологий и у здоровых женщин: где норма и где патология? *Акушерство и гинекология*. 2021;6:105-114.
Barinova VV, Kuznetsova NB, Bushtyreva IO, Oksenyuk OS, Dudurich VV, Shatalov AE. Endometrial microbiome in women with and without a history of repeated failures of assisted reproductive technology: what are norm and pathology? *Akusherstvo i ginekologiya*. 2021;6:105-114. (In Russ.).
https://doi.org/10.18565/aig.2021.6.105-114
2. Moreno I, Codoñer FM, Vilella F, Valbuena D, Martinez-Blanch JF, Jimenez- Almazán J, Alonso R, Alamá P, Remohí J, Pellicer A, Ramon D, Simon C. Evidence that the endometrial microbiota has an effect on implantation success or failure. *American Journal of Obstetrics and Gynecology*. 2016;215(6):684-703.
https://doi.org/10.1016/j.ajog.2016.09.075
3. Tissier H. *Recherches sur la flore intestinale des nourrissons (État Normal Et Pathologique)*. Paris: G.Carré et C.Naud;1900.
4. Whipps JM, Lewis K, Cooke RC. Mycoparasitism and plant disease control 161-187. In: *Fungi in Biological Control Systems*. Burge NM, ed. Manchester University Press: Manchester, UK; 1988.
5. Turnbaugh PJ, Ley RE, Hamady M, Fraser-Liggett CM, Knight R, Gordon JI. The human microbiome project. *Nature*. 2007;449(7164):804-810.
https://doi.org/10.1038/nature06244
6. Allaband C, McDonald D, Vazquez-Baeza Y, Minich JJ, Tripathi A, Brenner DA, Loomba R, Smarr L, Sandborn WJ, Schnabl B, Dorrestein P, Zarrinpar A, Knight R. Microbiome 101: Studying, analyzing, and interpreting gut microbiome data for clinicians. *Clinical Gastroenterology and Hepatology.* 2019;17(2):218-230.
https://doi.org/10.1016/j.cgh.2018.09.017
7. Berg G, Rybakova D, Fischer D, Cernava T, Verges MC, Charles T, Chen X, Cocolin L, Eversole K, Corral GH, Kazou M, Kinkel L, Lange L, Lima N, Loy A, Macklin JA, Maguin E, Mauchline T, McClure R, Mitter B, Ryan M, Sarand I, Smidt H, Schelkle B, Roume H, Kiran GS, Selvin J, Souza RSC, van Overbeek L, Singh BK, Wagner M, Walsh A, Sessitsch A, Schloter M. Microbiome definition revisited: Old concepts and new challenges. *Microbiome.* 2020;8(1):103.
https://doi.org/10.1186/s40168-020-00875-0
8. Al-Nasiry S, Ambrosino E, Schlaepfer M, Morré SA, Wieten L, Voncken JW, Spinelli M, Mueller M, Kramer BW. The Interplay

between Reproductive Tract Microbiota and Immunological System in Human Reproduction. *Frontiers in Immunology*. 2020;11:378. https://doi.org/10.3389/fimmu.2020.00378

9. Доброхотова, Ю. Э., Якубова К.К. Микробиота репродуктивного тракта и гиперпластические процессы эндометрия (обзор литературы) *РМЖ. Медицинское обозрение.* 2018;2(10):14-16.
Dobrokhotova YuE, Yakubova KK. Microbiota of the reproductive tract and endometrial hyperplastic processes (literature review). *RMZh. Medicinskoe obozrenie.* 2018;2(10):14-16. (In Russ.).
10. Адамян Л.В., Припутневич Т.В., Григорян И.Э., Гаврилова Т.Ю., Саркисян Р.М., Антонова А.А. Современные представления о микробиоте эндометрия. *Проблемы репродукции*. 2022;28(6):159-163.
Adamyan LV, Priputnevich TV, Grigorian IE, Gavrilova TYu, Sarkisyan RM, Antonova AA. Modern concepts of endometrial microbiota. *Russian Journal of Human Reproduction*. 2022;28(6):159-163. (In Russ.).
https://doi.org/10.17116/repro202228061159
11. Адамян Л.В., Припутневич Т.В., Гаврилова Т.Ю., Григорян И.Э. Миома матки и микробиота эндометрия: имеется ли взаимосвязь? *Проблемы репродукции*. 2022;28(6):164-169.
Adamyan LV, Priputnevich TV, Gavrilova TYu, Grigorian IE. Uterine fibroids and endometrial microbiota: is there a relationship? *Russian Journal of Human Reproduction*. 2022;28(6):164-169. (In Russ.).
https://doi.org/10.17116/repro202228061164
12. Khan KN, Fujishita A, Masumoto H, Muto H, Kitajima M, Masuzaki H, Kitawaki J. Molecular detection of intrauterine microbial colonization in women with endometriosis. *European Journal of Obstetrics and Gynecology and Reproductive Biology.* 2016;199:69-75.
https://doi.org/10.1016/j.ejogrb.2016.01.0 40
13. O'Callaghan JL, Turner R, Dekker Nitert M, Barrett HL, Clifton V, Pelzer ES. Re-assessing microbiomes in the low-biomass reproductive niche. *BJOG.* 2020;127(2):147-158.
https://doi.org/10.1111/1471-0528.15974
14. Шамилова А.М., Ильина И.Ю., Боровкова Е.И., Доброхотова Ю.Э. Хронический эндометрит. Пути улучшения методов диагностики. *РМЖ. Мать и дитя*. 2021;4(3):243-249.
Shamilova AM, Il'ina IYu, Borovkova EI, Dobrokhotova YuE. Chronic endometritis. Towards the improvement of diagnostic methods. *RMZh. Mat`i ditya.* 2021;4(3):243-249. (In Russ.).
https://doi.org/10.32364/2618-8430-2021-4-3-243-249
15. Tagini F, Greub G. Bacterial genome sequencing in clinical microbiology: A pathogen-oriented review. *European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Diseases.* 2017;36:2007-2020.
https://doi.org/10.1007/s10096-017-3024-6
16. Molina NM, Sola-Leyva A, Saez-Lara MJ, Plaza-Diaz J, Tubić-Pavlović A, Romero B, Clavero A, Mozas-Moreno J, Fontes J, Altmäe S. New Opportunities for Endometrial Health by Modifying Uterine Microbial Composition: Present or Future? *Biomolecules.* 2020;10(4):593.
https://doi.org/10.3390/biom10040593
17. Доброхотова Ю.Э., Боровкова Е.И., Бурденко М.В. и др. Модификация вероятности реализации восходящего инфицирования полости матки при проведении гинекологических процедур. *Акушерство и гинекология.* 2022;10:150-158.
Dobrokhotova YuE, Borovkova EI, Burdenko MV. Modification of the probability of the implementation of ascending infection of the uterine cavity during gynecological procedures. *Akusherstvo i ginekologiya*. 2022;10:150-158. (In Russ.).
https://doi.org/10.18565/aig.2022.10.150-158
18. Riganelli L, Iebba V, Piccioni M, Illuminati I, Bonfiglio G, Neroni B, Calvo L, Gagliardi A, Levrero M, Merlino L, Mariani M, Capri O, Pietrangeli D, Schippa S, Guerrieri F. Structural Variations of Vaginal and Endometrial Microbiota: Hints on Female Infertility. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology.* 2020;10:350.
https://doi.org/10.3389/fcimb.2020.00350
19. Mitchell CM, Haick A, Nkwopara E, Garcia R, Rendi M, Agnew K, Fredricks DN, Eschenbach D. Colonization of the upper genital tract by vaginal bacterial species in nonpregnant women. *American Journal of Obstetrics and Gynecology.* 2015;212:611.e1-611.e19.
https://doi.org/10.1016/j.ajog.2014.11.043
20. Коган Е.А., Аскольская С.И., Бурыкина П.Н., Файзулина Н.М. Рецептивность эндометрия у женщин с миомой матки. *Акушерство и гинекология*. 2012;(8-2):42-48.
Kogan EA, Askolskaya SI, Burykina PN, Faizulina NM. Endometrial receptivity in patients with uterine myoma. *Akusherstvo i ginekologiya*. 2012;(8-2):42-48. (In Russ.).
21. Fang RL, Chen LX, Shu WS, Yao SZ, Wang SW, Chen YQ. Barcoded sequencing reveals diverse intrauterine microbiomes in patients suffering with endometrial polyps. *American Journal of Translational Research*. 2016;8:1581-1592.

Поступила 21.07.2023
Received 21.07.2023
Принята к печати 20.10.2023
Accepted 20.10.2023