

© БАРАНОВСКАЯ Е.И., ВОРОНЕЦКИЙ А.Н.

УДК 618.214-008.87:579.16

DOI: 10.20333/25000136-2025-2-21-27

Как доказать существование микробов-резидентов в полости нормальной матки? (обзор литературы)

Е.И. Барановская, А.Н. Воронецкий

Белорусский государственный медицинский университет, Минск 220083, Республика Беларусь

Резюме. Цель настоящего обзора — оценить результаты изучения микробиома эндометрия с применением технологии NGS гена 16S рРНК в зависимости от исследуемых биологических образцов из полости матки и способа получения материала. В обзор включены публикации, вошедшие в базу данных PubMed/MEDLINE за период 2019—2024 гг., содержащие результаты исследования микробиома нормального эндометрия. Предполагается, что эндометрий содержит очень низкую микробную массу, что препятствует культивированию микроорганизмов, поэтому наиболее используемым методом является секвенирование следующего поколения для оценки последовательности гена 16S рибосомальной РНК. Полученные данные о микробиоме эндометрия противоречивы, что может быть обусловлено множеством факторов, включающих выбор обследуемого контингента, тип исследуемого биологического образца и способ его получения. Получить образец ткани нормального эндометрия можно лишь путем интервенции в полость матки, что не предполагается у здоровых женщин. Нет специального инструмента для асептической биопсии эндометрия, поэтому нельзя исключить контаминацию при введении адаптированного инструмента в полость матки через влагалище и шейку матки, имеющие в норме свой уникальный биоценоз с преобладанием *Lactobacillus*. Данные о присутствии и доминировании рода *Lactobacillus* в полости нормальной матки требуют критической оценки.

Ключевые слова: матка, эндометрий, лактобациллы, микробиом, секвенирование, оперативная таксономическая единица.

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Для цитирования: Барановская ЕИ, Воронецкий АН. Как доказать существование микробов-резидентов в полости нормальной матки? (обзор литературы). *Сибирское медицинское обозрение*. 2025;(2):21-27. DOI: 10.20333/25000136-2025-2-21-27

How to prove the existence of resident microbes in the cavity of a normal uterus? (a literature review)

A.I. Baranouskaya, A.N. Voronetsky

Belarusian State Medical University, Minsk 220083, Republic of Belarus

Abstract. The aim of this review is to evaluate the results of studying the endometrial microbiome using NGS technology for 16S rRNA gene depending on the analysed biological samples from the uterine cavity and the method of obtaining the material. The review includes publications with the research results of the normal endometrium microbiome available in the PubMed/Medline database for the period from 2019 to 2024. The endometrium probably contains an extremely low microbial mass; thus, the microorganisms cannot be detected by culturing and the most used method is next generation sequencing to evaluate the 16S ribosomal RNA gene. The data obtained on the endometrial microbiome are contradictory, which may be due to many factors, including the choice of the analysed contingent, the type of biological sample tested and the method of its collection. A sample of normal endometrial tissue can be obtained by intervening in the uterine cavity only, which is not routinely performed in healthy women. There is no special tool for aseptic endometrial biopsy, so contamination cannot be ruled out when introducing an adapted instrument into the uterine cavity through the vagina and cervix, which normally have their own unique biotope with a predominance of *Lactobacillus*. The data on the presence and dominance of the *Lactobacillus* genus in the normal uterine cavity require critical evaluation.

Key words: uterus, endometrium, *Lactobacilli*, microbiome, sequencing, operational taxonomic unit.

Conflict of interest. The authors declare the absence of obvious and potential conflicts of interest associated with the publication of this article.

Citation: Baranouskaya AI, Voronetsky AN. How to prove the existence of resident microbes in the cavity of a normal uterus? (a literature review). *Siberian Medical Review*. 2025;(2):21-27. DOI: 10.20333/25000136-2025-2-21-27

Последнее десятилетие рассматривается новая парадигма о микробиоме эндометрия [1, 2, 3, 4]. Развитие этого познания обусловлено, во-первых, пониманием важности эндометрия в имплантации blastocysts и стремлением исследовать состояние эндометрия при неизвестных причинах бесплодия, неудачных переносах эмбриона при применении вспомогательных репродуктивных технологий (ВРТ). Во-вторых, с развитием технологий молекулярных исследований, выполнением международных проек-

тов «Геном человека» и «Микробиом человека» стала доступной проверка гипотезы о постоянном присутствии микроорганизмов в полости нормальной матки. Доказательства нуждаются в применении точных воспроизводимых методов. Метагеномный анализ позволяет идентифицировать виды и штаммы микроорганизмов эндометрия, и данный метод доступен для исследовательских целей. Однако трудоемкая технология с использованием биоинформатики и биостатистики, необходимых для обработки большого

объема информации, дифференцирования и исключения генетического материала человека-хозяина, не дифференцирует живых и мертвых микроорганизмов [5]. Очень низкую биомассу живых микроорганизмов в эндометрии здоровых женщин обнаружил метатранскриптомный анализ [6], вместе с тем количество транскрипта необязательно идентично количеству микроорганизмов [7].

Наиболее приемлемым методом с достаточной информативностью, воспроизводимостью и оптимальными затратами для исследования микроорганизмов с очень низкой биомассой стало секвенирование следующего поколения (Next-generation sequencing, NGS) гена 16S рибосомальной РНК (рРНК), имеющего участки V1—V9 с различной вариабельностью. В большинстве исследований последних 5 лет данные о микроорганизмах в эндометрии основаны на результатах, полученных с помощью NGS вариабельных участков гена 16S рРНК, имеющегося у всех прокариот [3, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17].

В настоящем обзоре проведена оценка результатов изучения микробиома нормального эндометрия с применением технологии NGS гена 16S рРНК в зависимости от исследуемых биологических образцов из полости матки и способа получения материала. В обзор включены опубликованные исследования, вошедшие в базу данных PubMed/MEDLINE за период 2019—2024 гг. Настройка фильтров — полный свободный текст, последние 5 лет. Поиск выполняли по ключевым словам *endometrium microbiota/microbiom*. Всего в обзор включили 30 источников, отвечающих цели исследования.

Термины

Биотоп — однородная среда с обитающими в ней популяциями микроорганизмов.

Биоценоз — совокупность живых организмов, населяющих определенную однородную среду.

Микробиом — совокупность генов и/или продуктов активности живых микроорганизмов биотопов.

16S рРНК ген — кодирует компонент малой субъединицы 30S рибосомы прокариот, является филогенетически старым у бактерий.

Оперативная таксономическая единица (Operational Taxonomic Unit, OTU) — сообщество микроорганизмов, близкое к одному таксону, рассчитанное математически по данным секвенирования гена 16S рРНК.

Относительная численность (Relative Abundance, RA) OTU — доля (%) отдельной OTU в общей численности OTU в биотопе.

Учет результатов секвенирования следующего поколения

Метод NGS гена 16S рРНК является высокочувствительным, что необходимо для исследования био-

логических образцов с очень малой микробной массой, но для учета результатов используют принцип таксономической принадлежности с вычислением оперативной таксономической единицы (Operational Taxonomic Unit, OTU). OTU включает кластер вариантов с определенной нуклеотидной последовательностью гена 16S, соответствующий таксону с общими признаками, возникшими в процессе эволюции и лежащими в основе классификации микроорганизмов. От порога сходства последовательностей зависит таксономический ранг OTU на уровне типа, рода или вида согласно классификации микроорганизмов. Как правило, кластер OTU определяют с порогом идентичности 97% последовательностей гена 16S, что идентифицирует бактерии на уровне рода. Однако OTU необязательно идентична культивируемому микроорганизму, а количество OTU неабсолютно отвечает разнообразию видов или родов [7, 18, 19]. Объективным ограничением данного исследовательского подхода является его применимость только для бактерий.

Для количественного учета результата NGS гена 16S рРНК единицей измерения является относительная численность (Relative Abundance, RA) каждой отдельной OTU. Однако нет единого стандарта для критериев положительного результата. Для отдельной OTU учитывают минимум RA от 0,01 % до 1,0 % с минимальной долей образцов от 5 % до 15 % с данным показателем по отношению к общему количеству исследованных образцов. Отдельные авторы принимают во внимание минимальную RA OTU 0,01 % [20] или 1,0 % [21], 0,1 % в 10 % образцов [13], другие — не менее RA OTU 1 % в 5 % или 0,1 % в 15 % образцов [3] или присутствие OTU в 20 % образцов, независимо от RA [22]. NGS гена 16S рРНК не учитывает фенотипические признаки микроорганизмов, поэтому для описания результатов используют термин «микробиом».

Исследуемые биологические образцы из полости матки

Результаты применения технологий идентификации микроорганизмов могут быть связаны с типом тестируемого биологического материала — образца ткани (биоптата) эндометрия [3, 5, 9, 13, 21, 23, 24, 25], аспирата [3, 8, 11, 12, 15, 20, 26] или промывной жидкости из полости матки [9, 13, 27]. Получение биологического образца из полости матки требует выполнения инвазивной процедуры, выполняемой по медицинским показаниям, к которым относится необходимость патогистологической верификации патологии эндометрия. В репродуктивной медицине в ряде случаев требуется исключить хронический эндометрит (ХЭ), с этой целью используется исследование ткани эндометрия иммуногистохимическим (ИГХ) методом с подсчетом числа клеток CD138, одновременно полученный биологический материал может

быть подвергнут NGS гена 16S рРНК. Доля CD138-позитивных образцов среди бесплодных женщин зависит от критериев отбора пациентов для данного исследования и может составлять 9,2 % (12/130) [9], 11,1 % (2/18) [8], 26,6 % (25/94) [11], 31,4 % (1082/3449) [28], 40,8 % (29/71) [27] или 48 % (12/25) [13]. Среди здоровых фертильных женщин частота ХЭ по данным ИГХ составила 6,9 % (2/29) [25]. Образцы эндометрия без ИГХ-признаков ХЭ используют в качестве контрольных при NGS гена 16S рРНК.

Для избегания травматизации эндометрия и бережного получения биологического материала применяли аспирационную биопсию [5, 9, 13, 23, 24] или аспирацию содержимого из полости матки [3, 9, 13, 12, 15, 20, 26]. Результаты NGS гена 16S рРНК у пациенток репродуктивного возраста без инфекционных воспалительных заболеваний и с доказанным отсутствием патологии эндометрия могут с некоторым допущением экстраполироваться на когорту здоровых женщин. В таблицах 1 и 2 показаны результаты исследования микробиома методом NGS гена 16S рРНК в зависимости

от типов биологических образцов, полученных трансвагинально при отсутствии патологии матки.

Результаты NGS гена 16S рРНК однородны в том, что все или большинство образцов всех типов были позитивными, а по отношению ко всем обнаруженным таксонам в наибольшем количестве присутствовал род *Lactobacillus*. В ряде исследований в аспирированных биоптатах (табл. 1) *Lactobacillus* не были абсолютно доминирующими и при средней RA *Lactobacillus* 50,2—58,8 % [13, 21] доминирование *Lactobacillus*, определяемое как RA≥90 %, выявлено в 21,6—51,1 % исследуемых образцов [5, 21, 24]. Напротив, обследование 29 здоровых фертильных женщин показало среднюю RA *Lactobacillus* 97,2 % с доминированием *Lactobacillus*>90 % в 62,0 % образцов (18/29) [25]. В аспиратах из полости матки (табл. 2) средняя RA *Lactobacillus* была ниже, чем в аспирированных биоптатах, и составляла 15—27 % [12, 26] 21,08 % [11] с доминированием *Lactobacillus*>90 % в 8 % [12] и 38,9 % [8] образцов.

Данные различия могут объясняться тем, что среда в просвете полости матки и на поверхности сли-

Таблица 1

Результаты NGS гена 16S рРНК образцов ткани эндометрия и парных образцов

Table 1

NGS results for 16S rRNA gene of endometrial tissue samples and paired samples

Когорта	Образец	Инструмент	Участок гена	†RA OTU	Ссылка
Бесплодие, ЭКО, n=185	Биоптат аспирированный	Канюля Пайпель	V2-4-8; V3-6, 7-9	<i>Lactobacillus</i> >90 % (n=40; 21,6 % образцов), следы или отсутствие ДНК (n=105; 56,8 % образцов)	[5]
Бесплодие с только мужской причиной, ЭКО, n=17	Биоптат аспирированный	Medgyn Пипетка с отверстием IV	V4	<i>Lactobacillus</i> 58,8±37 %; <i>Lactobacillus</i> ≥90 % (n=6; 28,6 % образцов)	[21]
Здоровые, n=30	Биоптат аспирированный	Канюля Пайпель	V3-V4	<i>L. crispatus</i> 45,6 %, <i>L. iners</i> 20 %	[23]
Бесплодие, ЭКО, n=131	Биоптат аспирированный	Канюля Пайпель	EMMA*	<i>Lactobacillus</i> >90 % (n=67; 51,1 % образцов), ультранизкая биомасса (n=11; 8,4 % образцов)	[24]
Здоровые, n=29	Биоптат аспирированный	Пипетка-кюретка	V4	<i>Lactobacillus</i> 97,2 %; <i>Lactobacillus</i> >90 % (n=18; 62,0 % образцов)	[25]
Бесплодие, невынашивание беременности, ЭКО, n=118	Промывная жидкость	Катетер для переноса эмбриона	V4	<i>Lactobacillus</i> 80,7 % Результат средний для двух типов образцов	[9]
	Биоптат аспирированный	Канюля Пайпель			
Бесплодие, ЭКО, n=25	Промывная жидкость	Катетер для переноса эмбриона	V3-V4	<i>Lactobacillus</i> 71,8 % (<i>Lactobacillus</i> ≥50 %, n=20; 80% образцов)	[13]
	Биоптат аспирированный	Кюретка пайпель	V3-V4	<i>Lactobacillus</i> 50,2 % (<i>Lactobacillus</i> ≥50 %, n=13; 52 % образцов)	
Бесплодие, ЭКО, n=342	Аспират	Катетер для переноса эмбриона	V2-4-8, V3-6, 7-9	Негативные образцы (n=128/336; 38,1 % образцов). В позитивных <i>Lactobacillus</i> >1 % в 94,8 % образцов, <i>Streptomyces</i> >1 % в 68,4 % образцов	[3]
	Биоптат-соскоб	Канюля Cornier	V2-4-8, V3-6, 7-9	Негативные образцы (n=106/296; 35,8 % образцов). В позитивных <i>Lactobacillus</i> >1 % в 89,9 % образцов <i>Streptomyces</i> >1 % в 36,5 % образцов	

Примечание: *EMMA (endometrial microbiome metagenomic analysis) — метагеномный анализ микробиома эндометрия, секвенирование гена 16S рРНК;

†RA (Relative Abundance) — Относительная численность OTU.

Note: *EMMA - endometrial microbiome metagenomic analysis, 16S rRNA gene sequencing; †RA -Relative Abundance of OTU.

Таблица 2

Результаты NGS гена 16S рРНК образцов аспиратов и промывной жидкости из полости матки

Table 2

NGS results for 16S rRNA gene of aspirate and lavage fluid samples from the uterine cavity

Когорта	Образец	Инструмент	Участок гена	*RA OTU	Ссылка
Бесплодие, n=18	Аспират	Medgyn Пипетка	V4	<i>Lactobacillus</i> >90 % (n=7; 38,9 % образцов)	[8]
Бесплодие, ЭКО, n=25	Аспират	Катетер для внутриматочной инсеминации	V4	<i>Lactobacillus</i> 21,08 %	[11]
Бесплодие, ЭКО, n=53	Аспират	Катетер для переноса эмбриона	V3-V4-V6	<i>Lactobacillus</i> 15 % [2,5—44,5 %]; (<i>Lactobacillus</i> >90 % n=4; 8 % образцов)	[12]
Хирургическая стерилизация, n=4	Аспират	Катетер для эндоцервикальной аспирации	V2—4 и V6—9	<i>Lactobacillus</i> >90 % (n=4)	[15]
Бесплодие, ЭКО, n=99	Аспират	Катетер для внутриматочной инсеминации	V4	<i>Lactobacillus</i> >80 % + <i>Bifidobacterium</i> spp (n=68; 68,7 % образцов)	[20]
Бесплодие, ЭКО, n=15	Аспират	Катетер для переноса эмбриона	V3-V4-V6	<i>Lactobacillus</i> 27 %	[26]
Бесплодие, n=71	Промывная жидкость	Изобретенный двухпросветный катетер (Патент №: ZL 2018 2 1945014.0)	V4	<i>Lactobacillus</i> ≥50 % (n=42; 64,2 % образцов)	[27]

Примечание: *RA (Relative Abundance) OTU - Относительная численность OTU

Note: *RA -Relative Abundance of OTU.

зистой оболочки не идентична среде в толще ткани эндометрия, и противоположная тенденция показана K. Lüll et al. (2022) [13]. В двух исследованиях [9, 13] подвергли NGS гена 16S рРНК одновременно образцы двух типов — аспирированный биоптат и промывную жидкость из полости матки (табл. 1). Liu Y. et al. (2019) показали общий результат для всех типов биологических образцов, где средняя RA *Lactobacillus* составила 80,7 % [9]. Эти данные совпадают с результатом, полученным K. Lüll et al. (2022) при тестировании промывной жидкости, где средняя RA *Lactobacillus* составила 71,8 %, тогда как в аспирированном биоптате тех же пациенток средняя RA *Lactobacillus* — 50,2 %. При этом RA≥50 % была в 52 % образцов биоптата против 80 % образцов промывной жидкости [13]. I. Moreno et al. (2022) продемонстрировали результаты, в еще большей степени противоречащие приведенным выше, с незначительным отличием спектра OTU в аспирате из полости матки и соскобе эндометрия при невысокой относительной численности *Lactobacillus*. Обследование 342 бесплодных пациенток из 13 медицинских центров Европы, Америки и Азии установило RA *Lactobacillus*>1 % в 94,8 % образцов аспирата и в 89,9 % биоптатов [3].

Способы получения биологического образца из полости матки

Взятие биологического материала включено в преаналитический этап лабораторного исследования и прямо влияет на полученный результат. Результаты применения технологий идентификации микроорганизмов эндометрия могут быть обусловлены как типом исследуемого биологического материала, так и способом получения биологических образцов и видом использованных

инструментов (табл. 1, 2). В ряде случаев для сохранения целостности слизистой оболочки матки избегают соскабливания эндометрия острой кюреткой и применяют канюлю Ripelle, специально предназначенную для аспирационной биопсии [5, 9, 13, 23, 24]. Этот инструмент позволяет бережно взять образец ткани эндометрия для патоморфологического исследования, однако технологически процедура взятия образца не исключает контакт инструмента с шейкой матки и цервикальным каналом, которые в норме образуют уникальный биотоп. Выполнение процедур в программе ВРТ требует введения инструмента в полость матки и может сопровождаться взятием биологического образца из матки. Удобной моделью для получения аспирата из полости матки стал двухпросветный катетер, предназначенный для переноса эмбриона в матку [3, 9, 12, 13, 26]. Инструмент имеет внешний проводник, который изолирует его внутренний катетер от контакта с окружающей средой при непосредственном введении его в полость матки. При этом, с одной стороны, имеют значение глубина введения проводника и контаминация эндометрия от его внешней стенки, с другой стороны, катетер не предполагает получение образца ткани. Отдельные авторы импровизировали и для получения биологического образца из полости матки использовали катетер для внутриматочной инсеминации [11, 20] или катетер для эндоцервикальной аспирации [15], что имеет два недостатка: воздействие окружающих нестерильных тканей и невозможность получения образца ткани. Q. Chen et al. (2023) разработали собственный запатентованный инструмент [27].

Контаминанты и загрязняющая ДНК

Слизистая оболочка стенки матки, в отличие от слизистого слоя кишки, дыхательных путей, наруж-

ных половых органов, имеющих свой уникальный биоценоз, не сообщается непосредственно с внешней нестерильной средой. Однако матка находится анатомически рядом с влагалищем с присущим ему в норме доминированием бактерий рода *Lactobacillus*. Полость матки относительно изолирована нормальной шейкой матки, которая является анатомическим и биологическим барьером и преградой для микроорганизмов влагалища. Для получения биологического образца из полости матки *in vivo* необходимо ввести инструмент через влагалище и цервикальный канал, при этом есть высокая вероятность контаминации полученного образца микроорганизмами влагалища. Даже при незначительном контакте используемого инструмента или испытуемого биологического образца с нестерильной окружающей средой происходит контаминация, и из-за высокой чувствительности NGS обнаруживается загрязняющая ДНК [3, 13, 15, 28, 29]. От 9 до 15 таксонов, обнаруженных в холостых пробах, признаны контаминантами [8, 20, 21, 28, 29]. Однозначно к загрязняющей ДНК относят случаи обнаружения таксонов, не обитающих в теле человека [29].

Ряд исследований с одновременным тестированием вагинальных и эндометриальных образцов показывают схожие бактериальные сообщества в образцах обоих типов [8, 17, 29], когда 90,5 % (57/63) пар образцов относятся к одному типу сообщества с преобладанием *Lactobacillus* [23]. При этом, показывая схожесть микробиома влагалища и эндометрия с сильной корреляцией у одного и того же человека (средний коэффициент Пирсона для всех субъектов $r=0,952$), авторы не установили различий микробиома эндометрия в зависимости от наличия ХЭ и от эффективности ВРТ [8]. Исследователи, принимая присутствие и доминирование *Lactobacillus* в нормальной эндометрии в качестве установленного факта, используют его для описания микробиологического профиля эндометрия и классифицируют типы состояния микробного сообщества (community state type, CST) с учетом RA *Lactobacillus* [20, 24, 29, 30]. Метатранскриптомный анализ помог установить, что эндометрий здоровых женщин обладает очень низкой микробной биомассой с RA ниже 1 % для большинства идентифицированных микроорганизмов и без доминирования *Lactobacillus* [6].

Контаминации образцов эндометрия микроорганизмами, обитающими во влагалище и шейке матки, можно избежать при получении биологических образцов непосредственно из матки путем рассечения ее стенки или при гистерэктоми. Микробиом эндометрия методом NGS пяти участков (V2, V3, V5, V6, V8) гена 16S рПНК исследовали после лапароскопической гистерэктомии у 53 пациенток с подозрением на аденомиоз. Материал

для исследования в виде отпечатка стерильным ватным тампоном получен из дна матки после продольного рассечения стенки матки. Более четверти (15/53) образцов оказались негативными, из 38 позитивных в 21 случае в последующем аденомиоз подтвержден патоморфологическим методом, а 17 случаев без аденомиоза и воспаления вошли в контрольную группу. Всего было обнаружено 24 типа, 651 род и 1931 вид микроорганизмов, причем при аденомиозе наиболее распространенным, но не доминирующим, родом были *Lactobacillus* с относительной численностью 22,58 % при наибольшем присутствии вида *L. iners*. Напротив, в контрольных образцах *Vibrio* присутствовали с наибольшим RA 29,71 % [14]. A.D. Winters et al. (2019) методом NGS 16S рПНК и, при наличии *Lactobacillus*, количественной ПЦР продемонстрировали различия в составе и структуре микробиома в образцах, взятых из средней трети полости матки, шейки матки, влагалища, прямой кишки и полости рта у 25 женщин со средним возрастом 45 лет, подвергшихся трансвагинальной гистерэктомии в связи с миомой матки ($n=23$) или гиперплазией эндометрия ($n=2$). Наибольшее таксономическое богатство обнаружено в образцах из прямой кишки и полости рта, однако лишь 60 % (15/25) образцов эндометрия имели бактериальную нагрузку, превышающую фоновый контроль ДНК. При сравнении образцов из гениталий выявлена схожесть микробиома шейки матки и эндометрия с доминированием *Acinetobacter*. Примечательно, что у пациентов с высоким абсолютным количеством *Lactobacillus* во влагалище лишь 23 % (3/13) образцов эндометрия были позитивными для *Lactobacillus* с низким их количеством [10].

Преимущество исследований образцов эндометрия после гистерэктомии заключается в способе получения материала без контакта со средой влагалища и шейки матки, однако серьезным ограничением в интерпретации результатов является наличие патологии матки, ставшей показанием для хирургической операции [10, 14]. Полученные данные о доминировании *Lactobacillus* в образцах из полости матки, взятых трансвагинальным способом [15, 24, 25], нуждаются в подтверждении с применением стандартизированных испытаний [7].

Заключение

Полученные противоречивые данные о присутствии микроорганизмов в эндометрии, таксономическом разнообразии микробиома и доминирующих таксонах обусловлены комплексом факторов. Изучение микробиома нормального эндометрия имеет ряд серьезных ограничений, включающих в себя поиск здоровых женщин-добровольцев, выбор типа тестируемого биологического образца и способ его

получения, а также использованный методологический подход для лабораторного исследования. Важная проблема состоит в том, что для тестирования необходим образец ткани функционального слоя эндометрия, для получения которого *in vivo* доступны лишь два способа: 1) введение инструмента через влагалище и цервикальный канал, 2) рассечение стенки матки. В первом случае для выполнения биопсии эндометрия необходимы либо медицинские показания, что не исключает наличие патологии эндометрия у пациентов, либо участие здоровых добровольцев. Во втором случае хирургическая операция на матке всегда выполняется по медицинским показаниям при наличии патологии матки.

Протокол вспомогательных репродуктивных технологий включает выполнение внутриматочных манипуляций (перенос эмбриона или искусственная инсеминация), в ряде случаев необходимо исключение хронического эндометрита с применением иммуногистохимии. Поэтому в большинстве исследований приведены данные о состоянии микробиома у бесплодных женщин, где критериями исключения, как правило, являются воспалительные заболевания, недавнее использование антибактериальных средств или другие факторы, потенциально влияющие на микробное сообщество эндометрия. При обследовании бесплодных женщин требуется крайне бережное отношение к ткани эндометрия, поэтому для получения биологического образца имеются специальные коммерческие инструменты, но их использование не исключает контаминацию микроорганизмами цервикального канала. Все указанные обстоятельства объясняют разночтения полученных результатов применения высокочувствительной технологии NGS гена 16S рПНК для исследования микробиома эндометрия. Перспективным направлением для исследований микробиома эндометрия является создание протокола, регламентирующего способ получения и тип биологического образца, метод учета результата с определением наименьшей относительной численности таксона.

Литература/ References

1. Einkenkel R, Zygmont M, Muzzio DO. Microorganisms in the healthy upper reproductive tract: from denial to beneficial assignments for reproductive biology. *Reproductive Biology*. 2019;19(2):113-118. DOI: 10.1016/j.repbio.2019.04.001
2. Berg G, Rybakova D, Fischer D, Cernava T, Vergès MC, Charles T, Chen X, Coccolin 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 re-visited: old concepts and new challenges. *Microbiome*. 2020;8(1):103. DOI: 10.1186/s40168-020-00875-0
3. Moreno I, Garcia-Grau I, Perez-Villaroya D, Gonzalez-Monfort M, Bahçeci M, Barrionuevo MJ, Taguchi S, Puente E, Dimattina M, Lim MW, Meneghini G, Aubuchon M, Leondires M, Izquierdo A, Perez-Olgati

- M, Chavez A, Seethram K, Bau D, Gomez C, Valbuena D, Vilella F, Simon C. Endometrial microbiota composition is associated with reproductive outcome in infertile patients. *Microbiome*. 2022;(10):1. DOI: 10.1186/s40168-021-01184-w
4. Banchi P, Colitti B, Opsomer G, Rota A, Van Soom A. The dogma of the sterile uterus revisited: does microbial seeding occur during fetal life in humans and animals? *Reproduction*. 2023; 167(1):e230078. DOI: 10.1530/REP-23-0078
5. Fujii S, Oguchi T. Age- and endometrial microbiota-related delay in development of endometrial receptivity. *Reproductive Medicine and Biology*. 2023;22(1):e12523. DOI: 10.1002/rmb2.12523
6. Sola-Leyva A, Andrés-León E, Molina NM, Terron-Camero LC, Plaza-Díaz J, Sáez-Lara MJ, Gonzalvo MC, Sánchez R, Ruiz S, Martínez L, Altmäe S. Mapping the entire functionally active endometrial microbiota. *Human Reproduction*. 2021;(36):1021-1031. DOI: 10.1093/humrep/deaa372
7. Molina NM, Sola-Leyva A, Haahr T, Aghajanova L, Laudanski P, Castilla JA, Altmäe S. Analysing endometrial microbiome: Methodological considerations and recommendations for good practice. *Human Reproduction*. 2021;(36):859-879. DOI: 10.1093/humrep/deab009
8. Kitaya K, Nagai Y, Arai W, Sakuraba Y, Ishikawa T. Characterization of Microbiota in Endometrial Fluid and Vaginal Secretions in Infertile Women with Repeated Implantation Failure. *Mediators of Inflammation*. 2019;(2019):4893437. DOI: 10.1155/2019/4893437
9. Liu Y, Ko EY, Wong KK, Chen X, Cheung WC, Law TS, Chung JP, Tsui SK, Li TC, Chim SS. Endometrial microbiota in infertile women with and without chronic endometritis as diagnosed using a quantitative and reference range-based method. *Fertility and Sterility*. 2019; 112(4):707-717. DOI: 10.1016/j.fertnstert.2019.05.015
10. Winters AD, Romero R, Gervasi MT, Gomez-Lopez N, Tran MR, Garcia-Flores V, Pacora P, Jung E, Hassan SS, Hsu CD, Theis KR. Does the endometrial cavity have a molecular microbial signature? *Scientific Reports*. 2019;9(1):9905. DOI: 10.1038/s41598-019-46173-0
11. Chen W, Wei K, He X, Wei J, Yang L, Li L, Chen T, Tan B. Identification of Uterine Microbiota in Infertile Women Receiving *in vitro* Fertilization with and without Chronic Endometritis. *Frontiers in Cell and Developmental Biology*. 2021;(9):693267. DOI: 10.3389/fcell.2021.693267
12. Reschini M, Benaglia L, Ceriotti F, Borroni R, Ferrari S, Castiglioni M, Guarneri D, Porcaro L, Viganò P, Somigliana E, Uceda Renteria S. Endometrial microbiome: sampling, assessment, and possible impact on embryo implantation. *Scientific Reports*. 2022;12(1):8467. DOI: 10.1038/s41598-022-12095-7
13. Lüll K, Saare M, Peters M, Kakhiani E, Zhdanova A, Salumets A, Boyarsky K, Org E. Differences in microbial profile of endometrial fluid and tissue samples in women with *in vitro* fertilization failure are driven by *Lactobacillus* abundance. *Acta Obstetrica et Gynecologica Scandinavica*. 2022;101(2):212-220. DOI: 10.1111/aogs.14297
14. Lin Q, Duan H, Wang S, Guo Z, Wang S, Chang Y, Chen C, Shen M, Shou H, Zhou C. Endometrial microbiota in women with and without adenomyosis: A pilot study. *Frontiers in Microbiology*. 2023;(14):1075900. DOI: 10.3389/fmicb.2023.1075900
15. Canha-Gouveia A, Pérez-Prieto I, Rodríguez CM, Escamez T, Leonés-Baños I, Salas-Espejo E, Prieto-Sánchez MT, Sánchez-Ferrer ML, Coy P, Altmäe S. The female upper reproductive tract harbors endogenous microbial profiles. *Frontiers in Endocrinology*. 2023;(14):1096050. DOI: 10.3389/fendo.2023.1096050
16. Miyagi M, Mekar K, Tanaka SE, Arai W, Ashikawa K, Sakuraba Y, Nakamura R, Oishi S, Akamine K, Aoki Y. Endometrial and vaginal microbiomes influence assisted reproductive technology outcomes. *JBRA Assist Reproduction*. 2023;27(2):267-281. DOI: 10.5935/1518-0557.20220040
17. Bednarska-Czerwińska A, Morawiec E, Zmarzły N, Szapski M, Jendrysek J, Pecyna A, Zapletal-Pudelko K, Mafysiak W, Sirek T, Ossowski P, Łach A, Boroń D, Bogdał P, Bernet A, Grabarek BO. Dynamics of Microbiome Changes in the Endometrium and Uterine Cervix during Embryo Implantation: A Comparative Analysis. *Medical Science Monitor: International Medical Journal of Experimental and Clinical Research*. 2023;(29):e941289. DOI: 10.12659/MSM.941289

18. Lladó Fernández S, Větrovský T, Baldrian P. The concept of operational taxonomic units revisited: genomes of bacteria that are regarded as closely related are often highly dissimilar. *Folia Microbiologica*. 2019;64(1):19-23. DOI: 10.1007/s12223-018-0627-y
19. Kaluanga Bwanga P, Tremblay-Lemoine PL, Timmermans M, Ravet S, Munaut C, Nisolle M, Henry L. The Endometrial Microbiota: Challenges and Prospects. *Medicina (Kaunas)*. 2023;59(9):1540. DOI: 10.3390/medicina59091540
20. Hashimoto T, Kyono K. Does dysbiotic endometrium affect blastocyst implantation in IVF patients? *Journal of Assisted Reproduction and Genetics*. 2019;36(12):2471-2479. DOI: 10.1007/s10815-019-01630-7
21. Ichiyama T, Kuroda K, Nagai Y, Urushiyama D, Ohno M, Yamaguchi T, Nagayoshi M, Sakuraba Y, Yamasaki F, Hata K, Miyamoto S, Itakura A, Takeda S, Tanaka A. Analysis of vaginal and endometrial microbiota communities in infertile women with a history of repeated implantation failure. *Reproductive Medicine and Biology*. 2021;20(3):334-344. DOI: 10.1002/rmb2.12389
22. Riganelli L, Iebba V, Piccioni M, Illuminati I, Bonfiglio G, Neroni B, Calvo L, Gagliardi A, Levrero M, Merlino L, Mariani M, Capri O, Pi-trangeli 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. DOI: 10.3389/fcimb.2020.00350
23. Peuranpää P, Holster T, Saqib S, Kalliala I, Tiitinen A, Salonen A, Hautamäki H. Female reproductive tract microbiota and recurrent pregnancy loss: a nested case-control study. *Reproductive Biomedicine Online*. 2022;45(5):1021-1031. DOI: 10.1016/j.rbmo.2022.06.008
24. Iwami N, Kawamata M, Ozawa N, Yamamoto T, Watanabe E, Mizuuchi M, Moriwaka O, Kamiya H. Therapeutic intervention based on gene sequencing analysis of microbial 16S ribosomal RNA of the intrauterine microbiome improves pregnancy outcomes in IVF patients: a prospective cohort study. *Journal of Assisted Reproduction and Genetics*. 2023;40(1):125-135. DOI: 10.1007/s10815-022-02688-6
25. Takimoto K, Yamada H, Shimada S, Fukushi Y, Wada S. Chronic Endometritis and Uterine Endometrium Microbiota in Recurrent Implantation Failure and Recurrent Pregnancy Loss. *Biomedicines*. 2023;11(9):2391. DOI: 10.3390/biomedicines11092391
26. Carosso A, Revelli A, Gennarelli G, Canosa S, Cosma S, Borella F, Tancredi A, Paschero C, Boatti L, Zanotto E, Sidoti F, Bottino P, Costa C, Cavallo R, Benedetto C. Controlled ovarian stimulation and progesterone supplementation affect vaginal and endometrial microbiota in IVF cycles: a pilot study. *Journal of Assisted Reproduction and Genetics*. 2020;37(9):2315-2326. DOI: 10.1007/s10815-020-01878-4
27. Chen Q, Zhang X, Hu Q, Zhang W, Xie Y, Wei W. The alteration of intrauterine microbiota in chronic endometritis patients based on 16S rRNA sequencing analysis. *Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials*. 2023;22(1):4. DOI: 10.1186/s12941-023-00556-4
28. Kitaya K, Tanaka SE, Sakuraba Y, Ishikawa T. Multi-drug-resistant chronic endometritis in infertile women with repeated implantation failure: trend over the decade and pilot study for third-line oral antibiotic treatment. *Journal of Assisted Reproduction and Genetics*. 2022;39(8):1839-1848. DOI: 10.1007/s10815-022-02528-7
29. Miyagi M, Mekaru K, Tanaka SE, Arai W, Ashikawa K, Sakuraba Y, Nakamura R, Oishi S, Akamine K, Aoki Y. Endometrial and vaginal microbiomes influence assisted reproductive technology outcomes. *JBRA Assisted Reproduction*. 2023;27(2):267-281. DOI: 10.5935/1518-0557.20220040
30. France MT, Ma B, Gajer P, Brown S, Humphrys MS, Holm JB, Waetjen LE, Brotman RM, Ravel J. VALENCIA: a nearest centroid classification method for vaginal microbial communities based on composition. *Microbiome*. 2020;8(1):166. DOI: 10.1186/s40168-020-00934-6

Сведения об авторах

Барановская Елена Игоревна, д. м. н., профессор, Белорусский государственный медицинский университет; адрес: Республика Беларусь, 220083, г. Минск, пр. Дзержинского, 83; тел.: +375 (29) 6768137; e-mail: elena_baranovska@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-2116-4675>

Воронецкий Александр Николаевич, к. м. н., доцент. Белорусский государственный медицинский университет; адрес: Республика Беларусь, 220083, г. Минск, пр. Дзержинского, 83; тел.: +375 (29) 3290232; e-mail: anvoron@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-7091-376X>

Author information

Alena I. Baranouskaya, Dr. Med. Sci., Professor, Belarusian State Medical University; Address: 83, Dzerzhinsky Ave, Minsk, Belarus 220083; Phone: +375 (29) 6768137; e-mail: elena_baranovska@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-2116-4675>

Aliaksandr N. Voronetsky, Cand. Med. Sci., Associate Professor, Belarusian State Medical University. Address: 83, Dzerzhinsky Ave, Minsk, Belarus 220083; Phone: +375 (29) 3290232; e-mail: anvoron@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-7091-376X>

Дата поступления: 02.12.2024

Дата рецензирования: 10.02.2025

Принято к публикации: 03.04.2025

Received 02 December 2024

Revision Received 10 February 2025

Accepted 03 April 2025