

**Министерство здравоохранения Российской Федерации  
федеральное государственное бюджетное учреждение  
«НАЦИОНАЛЬНЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ЦЕНТР  
АКУШЕРСТВА, ГИНЕКОЛОГИИ И ПЕРИНАТОЛОГИИ ИМЕНИ  
АКАДЕМИКА В.И. КУЛАКОВА»**

*На правах рукописи*

**КИРИЛЛОВА**

**Екатерина Дмитриевна**

**КЛИНИКО-ПАТОГЕНЕТИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ СИНДРОМА  
ПОЛИКИСТОЗНЫХ ЯИЧНИКОВ С УЧЕТОМ МИКРОБИОТЫ  
КИШЕЧНИКА**

**3.1.4. Акушерство и гинекология**

**1.5.11. Микробиология**

**Диссертация на соискание ученой степени  
кандидата медицинских наук**

**Научные руководители:**

**д.м.н., профессор Чернуха Г.Е.**

**чл.-корр. РАН, д.м.н., доцент Припутневич Т.В.**

**Москва – 2024**

## Оглавление

ВВЕДЕНИЕ.....	3
<b>Глава 1. Обзор литературы.....</b>	<b>12</b>
1.1. Патогенетические аспекты синдрома.....	12
1.2. Кишечная микробиота в норме и патологических состояниях, ассоциированных с метаболической дисфункцией.....	15
1.3. Особенности кишечной микробиоты при СПКЯ.....	25
1.4. Перспективные направления терапии СПКЯ.....	29
<b>Глава 2. Материалы и методы исследования.....</b>	<b>34</b>
2.1. Материалы исследования.....	34
2.2. Методы исследования.....	36
2.3. Терапия.....	43
2.4. Статистическая обработка материала.....	44
<b>Глава 3. Клиническая характеристика пациенток.....</b>	<b>46</b>
<b>Глава 4. Результаты проведенных исследований.....</b>	<b>53</b>
4.1. Эндокринно-метаболические особенности пациенток с СПКЯ.....	53
4.1.1 Показатели эндокринной функции репродуктивной системы пациенток с СПКЯ.....	53
4.1.2. Метаболические характеристики больных с СПКЯ.....	57
4.1.3. Композиционный состав тела пациенток с СПКЯ.....	59
4.1.4. Хроническое субклиническое воспаление при СПКЯ.....	65
4.1.5. Кишечная микробиота при СПКЯ.....	70
4.2. Терапия пациенток с СПКЯ метформином.....	81
4.5. Терапия метформином и пробиотиком.....	95
<b>Глава 5. Обсуждение полученных результатов.....</b>	<b>98</b>
<b>ВЫВОДЫ.....</b>	<b>113</b>
<b>ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ.....</b>	<b>114</b>
<b>СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ.....</b>	<b>115</b>
<b>СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....</b>	<b>117</b>

## ВВЕДЕНИЕ

### АКТУАЛЬНОСТЬ ПРОБЛЕМЫ

Синдром поликистозных яичников (СПКЯ) – одно из наиболее распространенных гормонозависимых нарушений репродуктивной системы, частота которой составляет 10-13% [168].

СПКЯ характеризуется клинической и биохимической гиперандрогенией (ГА), поликистозной морфологией яичников и овуляторной дисфункцией, что приводит к олигоменорее, андрогензависимой дермопатии и ановуляторному бесплодию. У каждой 2-3-й пациентки СПКЯ наблюдается ожирение и метаболическая дисфункция, ассоциированные с сахарным диабетом (СД) 2 типа и кардиоваскулярными осложнениями [173, 184]. Проведенные исследования выявили более высокая частота метаболических нарушений у пациенток с СПКЯ при нормальной массе тела [115, 116, 201]. Это явилось предпосылкой к дискуссии о механизмах развития инсулинорезистентности (ИР) и о клинической значимости индекса массы тела (ИМТ) в диагностике избытка жировой ткани, связанного с развитием метаболических нарушений.

В последние годы накапливаются данные о роли нарушений кишечной микробиоты (КМ) в развитии ожирения, СД 2 типа и метаболического синдрома (МС) [48, 56, 174]. Поскольку СПКЯ тесно связан с метаболическими нарушениями, не исключается роль нарушений КМ в его генезе. Согласно теории DOGMA (Dysbiosis of Gut Microbiota), дисбиоз может провоцировать ИР, гиперпродукцию андрогенов и нарушение фолликулогенеза посредством активации иммунной системы в ответ на хроническое субклиническое воспаление [175]. Ключевым звеном данной концепции является нарушение баланса микроорганизмов, поддерживающих гомеостаз кишечника и колонизационную резистентность. Считается, что чрезмерная пролиферация условно-патогенных микроорганизмов (УПМ) способствует увеличению проницаемости стенки кишечника. Эндотоксин липополисахарид (ЛПС), являющийся компонентом клеточной стенки грамотрицательных бактерий, таким образом проникает в системный кровоток, что приводит к развитию эндотоксемии, вызывая иммунный ответ в виде индукции

синтеза провоспалительных цитокинов (фактора некроза опухоли альфа (TNF- $\alpha$ ), интерлейкина-6 (IL-6)) адипоцитами. Это способствует развитию хронического субклинического воспаления и ИР на пострецепторном уровне [175].

В литературе есть указание на снижение биологического разнообразия бактериального состава кишечника при СПКЯ, которое ассоциировано с гиперандрогенией и метаболическими нарушениями [98, 198], а также показано взаимное влияние микробиоты и андрогенов друг на друга [80, 153]. Однако к настоящему времени имеется ограниченное число исследований по изучению состава КМ у пациенток с СПКЯ, а их результаты достаточно противоречивы.

Взаимосвязь ИР и гиперандрогении (ГА) с кишечной микробиотой может служить основой для оптимизации принципов терапии СПКЯ, выбор которой в настоящее время определяется жалобами пациенток, преимущественно направлен на устранение проявлений ГА, регуляцию менструального цикла, индукцию овуляции и в меньшей степени на коррекцию метаболических нарушений. С этой целью применяются инсулиносенситайзеры, в частности метформин, однако регуляция цикла на его фоне происходит лишь в половине случаев. В литературе имеются данные о положительном эффекте метформина у больных с СД 2 типа на разнообразие и баланс кишечных микроорганизмов в виде увеличения количества симбионтных бактерий родов *Roseburia* spp., *Subdoligranulum* spp., *Phascolarctobacterium* spp., *Intestinimonas* spp. и порядка *Clostridiales* [57, 77]. Исследования по изучению эффекта метформина на КМ пациенток с СПКЯ единичны и не дают однозначного понимания о его влиянии на количественный и качественный состав микроорганизмов в кишечнике [61]. Проводятся попытки коррекции эндокринно-метаболических нарушений при СПКЯ путем модуляции КМ пробиотиками. Представлены данные как о положительном влиянии такого подхода, так и о его отсутствии [75, 118, 198]. Перспективным направлением является изучение влияния трансплантации кишечной микробиоты (ТКМ) на количество жировой ткани и ИР, что было показано в недавних исследованиях на мышах и человеке [134, 182, 188].

Все вышеизложенное обосновывает целесообразность дальнейшего изучения эндокринно-метаболических особенностей пациенток с СПКЯ с учетом композиционного состава тела и КМ для поиска возможных путей повышения эффективности терапии.

### **Степень разработанности темы исследования**

Проведенные к настоящему времени исследования указывают на ассоциацию СПКЯ с нарушениями микробиоты кишечника, однако данные об участии конкретных микроорганизмов или их групп в патогенезе СПКЯ разноречивы [83, 136, 172]. Исследования в данном направлении, проведенные на когорте российских женщин с СПКЯ, отсутствуют.

К настоящему времени имеется достаточное количество данных о наличии метаболической дисфункции у пациенток с СПКЯ, однако остаются малоизученными причины формирования этих нарушений у женщин с нормальным индексом массы тела [24, 41, 49, 66, 86, 135]. Не определена значимость композиционного состава тела в генезе метаболической дисфункции, что служит поводом для поиска предикторов метаболических нарушений у пациенток с СПКЯ при нормальном ИМТ.

С целью коррекции ИР и ассоциированной с ней ГА пациенткам с СПКЯ назначается терапия метформином. Однако предикторы эффективности данной терапии не определены, как и ее влияние на КМ, что подтверждает необходимость поиска маркеров успешности терапии, включая клинические, биохимические, иммунологические, а возможно, и микробиологические.

### **Цель исследования**

Оптимизация тактики ведения пациенток с СПКЯ на основе изучения особенностей кишечной микробиоты и ее связи с эндокринно-метаболическими нарушениями и маркерами хронического воспаления.

### **Задачи исследования**

1. Проанализировать композиционный состав тела, концентрацию лептина и адипонектина у пациенток с СПКЯ.

2. Оценить концентрацию провоспалительных цитокинов (IL-1, IL-6, TNF- $\alpha$ ) и СРБ в сыворотке больных с СПКЯ.
3. Определить взаимосвязь андрогенного и метаболического профиля с маркерами хронического воспаления у пациенток с СПКЯ.
4. Изучить состав микробиоты кишечника у пациенток с СПКЯ с учётом гормонального профиля и метаболических нарушений.
5. Провести сравнительный анализ эффективности метформина и его комбинации с пробиотиком на состав кишечной микробиоты, эндокринно-метаболические параметры и характер менструального цикла пациенток с СПКЯ.

### Научная новизна

В ходе комплексного клинико-лабораторного исследования определена частота и характер метаболических нарушений у пациенток с СПКЯ, имеющих нормальную массу тела. Изучение композиционного состава тела у данной когорты больных позволило выявить высокую частоту избытка жировой ткани, до 4-х раз увеличивающего риск метаболической дисфункции и до 9-ти раз – хронического субклинического воспаления.

На популяции российских женщин изучены особенности кишечной микробиоты при СПКЯ, описаны изменения ее состава, включая снижение видового богатства и нарушение баланса микробных сообществ в виде снижения численности симбионтных бактерий (*Clostridium leptum* gr., отдельных видов *Lactobacillus*, *Bifidobacterium* и *Bacteroides* spp.) и повышении популяции условно-патогенных видов *Clostridium* и *Staphylococcus* spp. Определена взаимосвязь нарушений КМ с избытком жировой ткани, повышением маркеров хронического субклинического воспаления и ИР.

Наряду с положительным эффектом терапии метформином на количество и распределение жировой ткани, а также эндокринно-метаболические параметры, установлено его влияние на кишечную микробиоту в виде увеличения численности симбионта *Akkermansia muciniphila* и снижения условно-патогенных микроорганизмов рода *Staphylococcus* и видов *Clostridium perfringens* и

*Clostridioides difficile*. Определены микробиологические предикторы эффективности терапии метформином, создана модель, позволяющая прогнозировать восстановление ритма менструаций на основе исходного уровня АМГ и количества симбионтных бактерий *Clostridium leptum* gr.

Научно обоснован поиск новых методов коррекции КМ у пациенток с СПКЯ, направленных на увеличение колонизационных показателей симбионтных микроорганизмов группы *Clostridium leptum* и *Akkermansia muciniphila*.

### **Практическая значимость полученных результатов**

На основании полученных результатов совершенствован алгоритм обследования пациенток с СПКЯ, включающий комплексную оценку метаболических параметров, композиционного состава тела с определением процентного содержания общей и висцеральной жировой ткани, ассоциированной с повышением маркеров хронического субклинического воспаления. Определены пороговые значения ИМТ для предикции избытка жировой ткани и метаболических нарушений у пациенток с СПКЯ при нормальной массе тела. Разработана модель прогнозирования эффективности терапии метформином, включающая уровень АМГ и численность *Clostridium leptum* gr.

### **Методология и методы исследования**

В основу работы положены результаты клинико-лабораторного обследования 300 женщин, обратившихся в отделение гинекологической эндокринологии ФГБУ «НМИЦ АГП им. В.И. Кулакова Минздрава России» с января 2019 по декабрь 2022 гг. Основную группу составили 270 пациенток с СПКЯ (средний возраст –  $25,9 \pm 5,5$  лет, средний ИМТ –  $24,1 \pm 5,0$  кг/м<sup>2</sup>). СПКЯ был диагностирован согласно рекомендациям Европейского общества репродукции и эмбриологии человека и Американского общества репродуктивной медицины [203]. Группу сравнения составили 30 женщин репродуктивного возраста (средний возраст –  $26,6 \pm 5,0$  лет, средний ИМТ –  $24,4 \pm 4,8$  кг/м<sup>2</sup>) с регулярным менструальным циклом, без гормонально-ассоциированных нарушений функции репродуктивной системы, гастроэнтерологических заболеваний, хронических воспалительных

некомпенсированных заболеваний различной локализации и этиологии, острых воспалительных заболеваний.

Клинико-лабораторное обследование включало оценку гормональных параметров на 2-3 день спонтанного или индуцированного приемом прогестагенов менструального цикла. Были определены сывороточные уровни АМГ, ЛГ, ФСГ, эстрадиола, общего тестостерона, свободного тестостерона, андростендиона, протеина, связывающего стероидные гормоны (ПССГ), 17-ОП, пролактина и ТТГ, а также лептина, адипонектина, IL-1, IL-6 и TNF- $\alpha$  и С-реактивного белка (СРБ). УЗИ органов малого таза проводилось трансвагинальным датчиком частотой 8,0 МГц. Определялся объем яичников и число антральных фолликулов в объеме яичников в 3D-режиме (аппарат Toshiba SSA-240, Япония). Всем пациенткам проведен пероральный 2-х часовой глюкозотолерантный тест (ПГТТ) с 75 г глюкозы. Уровень глюкозы и иммунореактивного инсулина определялся натощак, затем через 1 час и через 2 часа после нагрузки. Проведена оценка липидного профиля в сыворотке крови, включая общий холестерин, триглицериды, липопротеиды высокой плотности, липопротеиды низкой плотности, расчет коэффициента атерогенности. Количество и характер распределения жировой ткани, включая висцеральную жировую ткань, определялось методом двухэнергетической рентгеновской абсорбциометрии (аппарат фирмы «Lunar» (США)).

Оценка состава кишечной микробиоты проводилась двумя способами:

- методом культуромики с использованием расширенного спектра селективных и неселективных питательных сред с последующей видовой идентификацией всех выделенных микроорганизмов при помощи MALDI-TOF масс-спектрометрии и секвенированием участка гена 16S рРНК неидентифицированных бактерий

- молекулярно-биологическим методом ПЦР в режиме реального времени с помощью зарегистрированного в РФ набора реагентов для определения ДНК кишечного-ассоциированных микроорганизмов у детей (Энтерофлор-дети, ДНК-Технология, Россия), учитывая наличие в составе набора всех необходимых для анализа микробиоты труднокультивируемых микроорганизмов (отделы *Bacillota* (*Firmicutes*), *Pseudomonadota* (*Proteobacteria*), *Bacteroidota* (*Bacteroidetes*),

*Actinomycetota (Actinobacteria), Fusobacteriota (Fusobacteria), Verrucomicrobiota (Verrucomicrobia), Euryarchaeota*), в том числе грибов рода *Candida*, а также гена метициллинрезистентности *Staphylococcus spp. (mecA)*, *C. difficile* с генами энтеротоксинов А и В (*tcdA, tcdB*), *S. agalactiae* с геном инвазивности (*srf2*) [204].

Статистическая обработка данных проводилась с помощью таблиц «Microsoft Excel» (Microsoft office 2016) и программы «MedCalc» (MedCalc® statistical software, версия 22.013). Для количественных показателей рассчитаны средние значения и среднеквадратическое отклонение или медиана с интерквартильным размахом. Сравнение производилось с помощью t-критерия Стьюдента, теста Манна-Уитни или критерия  $\chi^2$  Пирсона. Для оценки видового богатства рассчитывался индекс Маргалёфа. Корреляционный анализ проводился с помощью метода Пирсона или непараметрического критерия Спирмена. Критический уровень значимости при проверке статистических гипотез принимался равным 0,05.

### **Положения, выносимые на защиту**

1. Для пациенток с СПКЯ, имеющих нормальный ИМТ, независимо от фенотипа синдрома, характерен избыток жировой ткани, в каждом 3-ем случае ассоциированный с гиперинсулинемией, инсулинорезистентностью, дислипидемией, в каждом 5-ом – с нарушением толерантности к глюкозе и в четверти случаев – с признаками хронического субклинического воспаления, сопряженного с избытком висцеральной жировой ткани.

2. Кишечная микробиота при СПКЯ характеризуется снижением видового богатства и изменением баланса микробных сообществ, что наиболее выражено в уменьшении численности симбионтных видов *Clostridium, Bacteroides* и ряда других бактерий, обеспечивающих колонизационную резистентность кишечника, а также в повышении популяции условно-патогенных видов *Clostridium* и *Staphylococcus spp.*, продуцирующих экзотоксины, ассоциированные с хроническим субклиническим воспалением, избытком жировой ткани и формированием инсулинорезистентности.

3. Исходный уровень АМГ  $\leq 12,7$  нг/мл и высокий уровень колонизации кишечника симбионтными бактериями группы *Clostridium leptum* (более  $10^9$  ГЭ/г)

могут служить предикторами эффективности терапии метформинем, сопряженной с улучшением состава кишечной микробиоты, коррекцией гиперинсулинемии, гиперандрогении и регуляцией ритма менструаций, комбинация метформина с пробиотиком не оказывает дополнительного положительного эффекта.

### **Личный вклад автора**

Автор принимал непосредственное участие во всех этапах научного исследования: от выбора направления и разработки дизайна до подготовки материалов к публикации и защите диссертации, провел обзор современной научной литературы, самостоятельно собирал образцы биологического материала, принимал участие в ведении пациенток. Диссертант самостоятельно выполнил статистический анализ данных и систематизацию полученных результатов.

### **Соответствие диссертации паспорту полученной специальности**

Научные положения диссертации соответствуют формуле специальности 3.1.4. «Акушерство и гинекология» и 1.5.11. «Микробиология». Результаты проведенного исследования соответствуют области исследования специальностей, конкретно пунктам 1, 4 и 5 паспорта акушерства и гинекологии и пунктам 9 и 10 паспорта микробиологии.

### **Апробация работы**

Диссертационная работа доложена на межклинической конференции (13.07.2022) и заседании апробационной комиссии ФБГУ «НМИЦ АГП им. В.И. Кулакова» Минздрава России (20.11.2023, протокол №13). Результаты работы представлены на XXII Всероссийском научном форуме «Мать и Дитя» (Москва, 29.09–01.10.2021), Российском научно-практическом конгрессе "Гинекологическая эндокринология в возрастном аспекте: проблемы и решения" (Москва, 11–13.11.2021, 16–18.11.2023), XVI Международном конгрессе по репродуктивной медицине (Москва, 18–21.01.2022), XXIX Всероссийском конгрессе «Амбулаторно-поликлиническая помощь в эпицентре женского здоровья от менархе до менопаузы» (Москва, 29–31.03.2023), II Всероссийском конгрессе «Право на жизнь» (Москва, 20-21.04.2023), IX Российском конгрессе лабораторной медицины (Москва, 04-06.10.2023 г.).

### **Внедрение результатов исследования в практику**

Результаты исследования внедрены и используются в практической деятельности отделения гинекологической эндокринологии ФГБУ «НМИЦ АГП им. В.И. Кулакова» Минздрава России. Материалы диссертации включены в лекции, практические занятия и используются при проведении конгрессов.

По теме диссертации опубликовано 7 печатных работ, из них 4 статьи в рецензируемых изданиях, рекомендованных Высшей аттестационной комиссией при Министерстве образования и науки Российской Федерации.

### **Структура и объем диссертации**

Диссертация изложена на 136 страницах печатного текста, состоит из введения, пяти глав, посвященных описанию материалов и методов исследования, полученным результатам и их обсуждению, а также выводов, практических рекомендаций и списка использованной литературы. Диссертационная работа иллюстрирована 31 рисунком и 20 таблицами. Библиография содержит 204 источника литературы, в том числе 9 отечественных и 195 зарубежных авторов.

## **Глава 1. Синдром поликистозных яичников и микробиота кишечника (обзор литературы)**

### **1.1. Патогенетические аспекты синдрома.**

Синдром поликистозных яичников является наиболее распространенным заболеванием эндокринной системы среди женщин репродуктивного возраста, частота которого может достигать 13%. [169]

Согласно Роттердамскому консенсусу [145], СПКЯ диагностируется при наличии хотя бы двух из трех критериев: гиперандрогения, поликистозные яичники и олигоановуляция. Его высокая частота, а также связь с ожирением, бесплодием, андрогензависимой дермопатией, нарушениями углеводного и липидного обмена, сердечно-сосудистой патологией, гиперпластическими процессами эндометрия и психологическими расстройствами подчеркивают значительный вклад синдрома не только в репродуктивные, но и в социальные аспекты жизни женщин. Несмотря на длительную историю изучения, механизмы формирования СПКЯ до конца не ясны. Вместе с тем, подобно ряду других заболеваний, важная роль в развитии СПКЯ отводится как генетическим, так и эпигенетическим факторам. [44, 54] Считается, что СПКЯ представляет собой самовоспроизводящийся порочный круг, включающий нейроэндокринную, метаболическую и яичниковую дисфункцию. [186]

Традиционно принято выделять четыре фенотипа СПКЯ, согласно сочетанию Роттердамских критериев: фенотип А (ГА + ПКЯ + ОМ), фенотип В (ГА + ОМ), фенотип С (ГА + ПКЯ) и фенотип D (ПКЯ + ОМ). Наиболее тяжелыми из них считаются фенотип А и В ввиду более тяжелого течения и высокого риска развития метаболического синдрома. [121] Тем не менее, целесообразность выделения фенотипов СПКЯ, как и диагностические критерии, до сегодняшнего дня являются предметом научных дискуссий вследствие большей значимости метаболической дисфункции в тактике ведения пациенток. Так, в 2020 г. Daras M. и др. с помощью кластеризации биохимических и генотипических данных выделили два фенотипических подтипа СПКЯ: репродуктивный (с более высокими уровнями ЛГ и ПССГ) и метаболический (с более высоким ИМТ, а также инсулином и глюкозой

натошак). [36] Эти данные вносят значимый вклад в понимание не только генетических механизмов формирования синдрома, но и прогноза его течения у различных групп пациенток, что немаловажно для определения тактики терапии.

Помимо генетических факторов, по современным представлениям, основными компонентами патогенеза СПКЯ являются избыточное потребление углеводов, инсулинорезистентность, гиперандрогения и хроническое субклиническое воспаление. [17] Роль инсулина является ключевой как в регуляции активности ферментов яичников и печени, участвующих в выработке андрогенов, так и в активации субклинического воспаления, ассоциированного с резистентностью к инсулину, дислипидемией и сердечно-сосудистыми заболеваниями.

Метаболические нарушения наблюдаются у каждой 2-3-ей пациентки с СПКЯ и усугубляются на фоне избыточной массы тела и ожирения. [115] Имеются данные о повышенной частоте метаболической дисфункции и у пациенток с СПКЯ без ожирения. [116, 201] В мета-анализе 2010 года приведены данные о трехкратном увеличении риска нарушения толерантности к глюкозе (НТГ) и метаболического синдрома у пациенток с СПКЯ при нормальном индексе массы тела (ИМТ) по сравнению с группой здоровых женщин. [115] Схожие данные были представлены в мета-анализе 2019 года, где указывается также на значительное повышение риска гиперинсулинемии и ИР. [201] Вместе с тем, в ряде других исследований не выявлено существенных различий в частоте встречаемости НТГ и сахарного диабета 2 типа между пациентками СПКЯ, имеющими нормальную массу тела и здоровыми женщинами контрольной группы. [128, 179]

Вопрос о клинической значимости ИМТ в последние годы достаточно широко дискутируется на страницах научных журналов. Американская ассоциация клинических эндокринологов предлагает не рассматривать ИМТ в качестве ключевого критерия ожирения, которое можно диагностировать даже при ИМТ 25 кг/м<sup>2</sup> и наличии хотя бы одного осложнения, заболевания или состояния, с ним ассоциированного. [64] Стоит отметить также, что ИМТ представляет собой простое уравнение, основанное на параметрах роста и массы тела, которое

включает жировую, мышечную, костную ткань, а также воду в организме. [38] Результаты проведенных исследований показали, что ИМТ недостаточно информативен для оценки избытка или дефицита жировой ткани, тесно связанной с уровнем половых стероидных гормонов. [74, 85] Пациенты с нормальным ИМТ могут иметь НТГ, ИР и гиперинсулинемию, это трактуется как метаболическое ожирение при нормальном весе (*metabolically obese normal weight*). [147] Некоторые данные указывают на наличие избыточного количества жировой ткани у людей с нормальной массой тела. [32] Информативным, достаточно простым и недорогим методом оценки композиционного состава тела у таких пациенток, включающим количественный анализ и характер распределения жировой и безжировой массы тела, является двухэнергетическая рентгеновская абсорбциометрия (денситометрия). Однако в настоящее время данный метод не включен в алгоритм обследования пациенток с СПКЯ. Это может приводить к недооценке кардио-метаболических рисков, поскольку хорошо известно о взаимосвязи избытка жировой ткани, особенно ее повышенного накопления в абдоминальной области, с развитием метаболической дисфункции и хроническим субклиническим воспалением (ХСВ). [52, 64, 148] В последние годы появляется все больше данных, свидетельствующих о косвенных признаках ХСВ у пациенток с СПКЯ в виде умеренного повышения уровней провоспалительных цитокинов и С-реактивного белка (СРБ). [46, 84] Сообщается также о положительной корреляции уровня СРБ с ИР и массой общей жировой ткани у таких пациенток. [46, 84, 119] Однако неясно, что в данном случае развивается первично, и связано ли ХСВ с СПКЯ или в большей степени с ИР и ожирением. С одной стороны, жировая ткань сама по себе является источником гормонов (лептин, висфатин, резистин и др.), белков острой фазы (РАІ-1, гаптоглобин и др.) и цитокинов (ФНО- $\alpha$ , ІL-1, ІL-6, и др.), которые играют важную роль в генезе воспаления и ИР. С другой стороны, провоспалительные цитокины могут нарушать липидный обмен в нежировых тканях. В печени повышение аккумуляции липидов является результатом повышенного импорта жирных кислот, синтеза липидов и снижения окисления жирных кислот, вызванного воспалением. [99]

Также дискуссионным остается вопрос о повышении уровня IL-6, который является наиболее активным индуктором продукции СРБ в печени, у пациенток с СПКЯ. Так, результаты мета-анализа Escobar-Morreale и др. не выявили различий в сывороточных уровнях интерлейкина-6 (IL-6) между пациентками с СПКЯ и здоровыми женщинами, в то время как в нескольких других исследованиях было продемонстрировано значимое повышение его уровня. [46, 59, 97, 141]

Потенциальная связь СПКЯ с повышением уровня фактора некроза опухоли-альфа (TNF- $\alpha$ ) также вызывает интерес, поскольку, являясь важным медиатором ИР, он связан с такими компонентами метаболического синдрома, как НТГ, артериальная гипертензия и ДЛП. [21] Результаты исследований уровня TNF- $\alpha$  при СПКЯ разноречивы. Наряду с данными о повышении уровня TNF- $\alpha$  по сравнению с контрольной группой даже при нормальном ИМТ [30, 70], имеются данные об отсутствии различий между группами [59, 119].

Некоторые исследования продемонстрировали взаимосвязь воспаления, возникающего в жировой ткани, с метаболической дисфункцией [104, 155, 197], однако, если взаимосвязь воспаления с ожирением подтверждена данными литературы, то повышение провоспалительных маркеров у пациенток с СПКЯ, особенно при нормальной массе тела, остается предметом дискуссий.

Одним из факторов, влияющих на метаболический и иммунный статус человека, является состав кишечной микробиоты (КМ), которому в последнее время уделяется большое внимание научной общественности. Изменения ее состава связывают с возникновением целого ряда болезней - от воспалительных заболеваний кишечника (язвенный колит, синдром раздраженного кишечника) до метаболических нарушений (ожирение и СД2) и даже психиатрических проблем. [55, 175] Предполагается, что изменения бактериального состава кишечника могут играть значимую роль в патогенезе СПКЯ. [55, 138, 175]

## **1.2. Кишечная микробиота в норме и патологических состояниях, ассоциированных с метаболической дисфункцией.**

Совокупность всех микроорганизмов (бактерии, археи, простейшие, грибы и т.д.) отдельных локализаций человеческого организма называют микробиотой, а

вместе с геномом - микробиомом. Бактерии являются наиболее распространенными микроорганизмами в кишечной микробиоте (КМ), их количество составляет около  $3,8 \cdot 10^{13}$ , что соотносится с общим числом клеток самого человека. [151] Тысячелетия эволюции способствовали развитию взаимовыгодных отношений между людьми и микроорганизмами, что привело к образованию сложной экосистемы кишечника, играющей существенную роль как в физиологических, так и в патологических процессах человеческого организма. [124]

Несмотря на большие успехи метагеномики и метаболомики в исследовании КМ, до сегодняшнего дня продолжают широкие дискуссии относительно так называемой нормальной микрофлоры кишечника, поскольку около  $2/3$  ее качественного и количественного состава может различаться даже у здоровых людей в зависимости от множества факторов, таких как генотип хозяина, диетические привычки, физические нагрузки, прием антибактериальных препаратов и другие. [53, 72] Все больше данных свидетельствует о том, что основным показателем «здоровья» КМ является ее функциональная стабильность и устойчивость, то есть нормальным может считаться набор микроорганизмов, который способен поддерживать свое динамическое равновесие, несмотря на внешние (например, диета, прием лекарственных препаратов) или внутренние (например, старение, беременность) изменения. [53, 102]

Одним из важнейших показателей, обеспечивающих это равновесие, является биологическое разнообразие. Его высокий уровень приводит к тому, что в репертуаре микробных сообществ кишечника присутствуют группы со схожими метаболическими функциями, в связи с чем потеря одного сообщества может компенсироваться другим. [53] Кроме того, стабильность КМ поддерживается за счет баланса микроорганизмов, имеющих разный характер взаимодействия как между собой, так и с организмом человека. Хотя существует большое количество типов таких взаимодействий (комменсализм, мутуализм, паразитизм, антагонизм и др.), наиболее часто бактерии, населяющие кишечник классифицируют на симбиотические (приносящие потенциальную пользу организму), условно-

патогенные (приносящие вред в случае чрезмерного роста или снижения местного иммунитета) и патогенные (возбудители бактериальных инфекций). [5, 124] Равновесие симбионтов и условно-патогенных микроорганизмов (УПМ) поддерживает стабильность КМ и обеспечивает механизмы ее колонизационной резистентности к инфицированию абсолютными патогенами и распространению УПМ. [124]

Становление КМ – длительный процесс, вмешательство в который может оказать существенное влияние на здоровье человека. Кишечник начинает заселяться бактериями сразу после рождения, в основном обитателями вагинального тракта матери. [167] Кроме того, имеются данные о наличии бактериальной ДНК в околоплодных водах матери и меконии новорожденных детей, что говорит о возможности более раннего попадания микробов в ЖКТ человека. [117] Взаимодействуя с кишечными эпителиальными рецепторами, микробиота способствует не только формированию иммунной системы на ранних этапах развития ребенка, но и обеспечивает иммунную толерантность, необходимую для поддержания симбиотических отношений с микроорганизмами. [102, 124] Выбор метода родоразрешения в пользу операции кесарево сечение, преждевременные роды и антибиотикотерапия существенно изменяет профиль микроорганизмов, заселяющих кишечник на данном этапе, что может predispose к развитию у новорожденных как инфекционно-воспалительных, так и аутоиммунных заболеваний. [129, 143, 152, 167, 190] КМ детей, находящихся на грудном вскармливании, состоит в основном из *Bifidobacterium* spp. и *Lactobacillus* spp. После введения твердой пищи она начинает меняться: наблюдается относительное снижение представителей молочнокислой микрофлоры, а среди *Bifidobacterium* spp. начинают преобладать виды *longum*, *breve* и *adolescentis*, и уже в возрасте двух лет микробиом ребенка приближается к таковому у взрослого человека, постепенно превращаясь в относительно стабильное микробное сообщество. [167]

Крупные популяционные метагеномные исследования показали, что, несмотря на индивидуальные видовые различия, в кишечнике взрослых

преобладает пять типов бактерий: *Bacillota* (*Firmicutes*), *Bacteroidota* (*Bacteroidetes*), *Pseudomonadota* (*Proteobacteria*), *Actinomycetota* (*Actinobacteria*) и *Verrucomicrobiota* (*Verrucomicrobia*). Почти 90% популяции толстого кишечника составляют типы *Bacillota* и *Bacteroidota*, а его видовой состав представлен более чем 2000 бактерий. [78, 92]

Развитие методов культуromики с использованием матрично-активированной лазерной десорбционно/ионизационной времяпролетной масс-спектрометрии (MALDI-TOF MS), транскриптомики и метаболомики позволило охарактеризовать множество функциональных особенностей различных групп микроорганизмов и дало представление о связанных с ними метаболических путях. Было показано, что симбионты участвуют в синтезе витаминов, короткоцепочечных жирных кислот (КЖК), линолевой кислоты, аминокислот, в биотрансформации желчных кислот, в ферментации и гидролизе неперевариваемых волокон, метаболизме углеводов, в синтезе аммиака и детоксикации. Кроме того, имеются данные о влиянии КМ на фармакокинетику и фармакодинамику лекарственных средств. [146, 161] Особый интерес представляют КЖК – молекулы бактериального происхождения, которые играют важную роль в регуляции потребления пищи, расхода энергии и поддержании иммунного гомеостаза кишечника. Они служат источником энергии для эпителия толстого кишечника, обеспечивая примерно 5–15% потребности человека в ней, модулируют продукцию цитокинов, индуцируют увеличение регуляторных Т-клеток. Основные КЖК (ацетат, бутират и пропионат) вырабатываются путем ферментации углеводов, обладают противовоспалительным, антиканцерогенным и иммуномодулирующим эффектом. [100] Бутират поддерживает целостность кишечного барьера, а также может усиливать апоптоз клеток при раке толстой кишки. Пропионат участвует в глюконеогенезе, ацетат - в метаболизме холестерина и липогенезе. [158]

Для поддержания устойчивости к колонизации патогенами, бактериальные КЖК способны также усиливать выработку муцина клетками MUC-2 слизистой оболочки толстой кишки, препятствуя проникновению через нее бактерий. Кроме того, они обладают сильным иммуномодулирующим действием, ассоциированным

с повышением выработки защитных пептидов, цитокинов, хемокинов и фагоцитов. [146] Однако основным фактором, препятствующим внедрению патогенов, считается иммуностимулирующий компонент клеточной стенки грамположительных бактерий – липотейхоевая кислота, активирующая секрецию противовоспалительного IL-10 через TLR2 (толл-подобный рецептор 2 типа), в то время как стенки грамотрицательных бактерий содержат эндотоксин липополисахарид (ЛПС), способный через TLR4 активировать синтез провоспалительных цитокинов (IL-1, IL-6). [11, 42, 127] Помимо этого, симбионты способны формировать биопленки, продуцировать молочную кислоту и антимикробные компоненты, конкурентно подавляющие рост патогенной микрофлоры, ингибирующие выработку токсичных ЛПС и пептидогликанов. [53]

Условно-патогенные микроорганизмы также являются неотъемлемой частью КМ, однако, в отличие от симбионтов, они не только лишены большого количества полезных для человека свойств, но и обладают рядом характеристик, представляющих потенциальную угрозу человеческому организму, в случае их активного роста и превосходства над симбионтами. Такие сдвиги могут быть временными и быстро компенсироваться динамической экосистемой кишечника, но в некоторых случаях приводят к смещению равновесия в сторону стабильно «нездоровой» микробиоты, что может служить фактором риска развития хронических заболеваний. Классическим примером такого состояния служит псевдомембранозный колит – воспаление кишечника, чаще всего вызванное чрезмерным ростом *Clostridioides (Clostridium) difficile* на фоне истощения симбионтов вследствие длительной антибиотикотерапии. [53] Дисбаланс микробных сообществ наблюдается не только при воспалительных заболеваниях кишечника (ВЗК), но и других патологических состояниях, в том числе метаболической дисфункции. Наиболее значимые симбионты и УПМ, а также данные об ассоциированных с изменением их количества патологических состояниях, представлены в таблице 1.

**Функциональные особенности бактерий и связанные с их обилием  
патологические состояния**

Группа бактерий	Функциональные особенности	Патологические состояния
<i>Akkermansia muciniphila</i>	Синтез КЖК поддержание целостности кишечного барьера снижение количества токсинов в системном кровотоке	Снижение количества отмечается при ожирении, метаболическом синдроме и СД 2 типа [191]
<i>Clostridium leptum</i> gr. (кластер IV)	Включает: <i>C. leptum</i> , <i>C. sporosphaeroides</i> , <i>C. cellulosi</i> и <i>Faecalibacterium prausnitzii</i> одна из доминирующих популяций КМ синтезирует КЖК (в основном – бутирата)	Численность и разнообразие снижаются при ВЗК [81]
<i>Escherichia coli</i>	Непатогенная кишечная палочка одна из первых заселяет кишечник человека, будучи факультативным анаэробом, создает благоприятную среду для дальнейшего роста облигатных анаэробов. [120] Может ферментировать источники углерода с образованием КЖК и лактата Патогенная обладает гемолитическими свойствами	Количество непатогенной кишечной палочки может снижаться при ВЗК [89]  Представители, обладающие патогенными свойствами, вызывают острые кишечные инфекции и ВЗК [33] имеются данные об их связи с ожирением [150]
<i>Faecalibacterium prausnitzii</i>	Относится к <i>C. leptum</i> (кластер IV), один из доминирующих видов в КМ синтезирует КЖК (в основном – бутират)	Снижение количества <i>F. prausnitzii</i> связывают с ВЗК [160]

<i>Lactobacillus</i> spp.	Ферментируют лактозу и углеводы в молочную кислоту, повышая кислотность кишечника синтез КЖК регулируют количественный и качественный состав микрофлоры кишечника	Сниженное количество связывают с ожирением и ВЗК[15]
<i>Bacteroides</i> spp.	Непатогенные виды ферментируют углеводы и белки, участвуют в трансформации желчных кислот, синтезе КЖК и поддержании пищевых взаимодействий микроорганизмов Патогенные виды (напр., <i>B. fragilis</i> ) являются одним из основных источников эндотоксина ЛПС [106]	Имеются разноречивые данные: некоторые исследования демонстрируют увеличение количество <i>Bacteroides</i> spp. при СД 2 типа, другие – его снижение [35] Патогенные виды могут вызывать анаэробные инфекции
<i>Bifidobacterium</i> spp.	Синтез КЖК, аминокислот, белков и витаминов, активизация пристеночного пищеварения, регуляция моторики кишечника, обезвреживание нитратов, обмен желчных кислот	Снижение количества бифидобактерий связывают с ожирением и ИР, ВЗК [68]
<i>Prevotella</i> spp.	Играет центральную роль в углеводном и водородном обмене Синтез КЖК (пропионат) Участвует в обмене аминокислот, углеводов, липидов, витаминов Патогенные виды превотелл могут являться причиной инфекций [18]	Снижение титра связывают с атрофическим гастритом и раком желудка, повышение может быть ассоциировано с эзофагитом, пищеводом Барретта, колоректальным раком [2]
<i>Clostridium perfringens</i>	Условные патогены	Может быть причиной следующих системных и кишечных патологий: острая

		водная диарея, некротизирующий энтерит, непищевая диарея. До 70% случаев пищевых отравлений вызвано <i>C. perfringens</i> , относящимся к типу F
<i>Thomasclavelia ramosa (Clostridium ramosum)</i>		Чрезмерное количество может способствовать развитию ожирения [107]
<i>Staphylococcus spp.</i>		Увеличение может вызвать гнойно-воспалительные заболевания, стафилококковые энтеротоксины, являются этиологическим агентами пищевых отравлений, а также могут быть индукторами неспецифического язвенного колита имеются данные об их связи с ожирением [150]
<i>Staphylococcus aureus</i>		Является наиболее распространенным возбудителем внутрибольничных инфекций
<i>Streptococcus spp.</i>		Вызванные стрептококком инфекционно-воспалительные заболевания относят к числу наиболее распространенных заболеваний бактериальной природы, чаще вызывают тонзиллит и фарингит
<i>Streptococcus agalactiae</i>		Частый агент при осложнении беременности и сепсиса

		новорожденных; так же вызывает воспаление верхних дыхательных путей
<i>Clostridioides difficile</i> gr.	Патоген	Возбудитель псевдомембранозного колита

К настоящему времени получены данные, позволяющие говорить о различиях микробиоты кишечника здоровых людей и пациентов с МС, ожирением и СД2. Ранее предрасположенность к ожирению связывали с нарушением соотношения бактериальных типов *Bacteroidota* и *Bacillota* в составе кишечной микробиоты. Однако применение методов секвенирования нового поколения позволило более подробно изучить состав кишечной микробиоты и выявить иные закономерности. В исследованиях последних 15 лет, проведенных методом секвенирования участка гена 16S рРНК, обнаружено снижение бактериального разнообразия кишечника до 30% у лиц с ожирением и метаболической дисфункцией. Вместе с тем, не установлено значительной связи ИМТ с основными типами бактериальных сообществ, однако выявлены количественные и качественные изменения в классах, семействах, родах и даже видах бактерий. [25, 164, 181, 183] В большинстве работ найдена отрицательная корреляция между количественным содержанием бактерий рода *Bifidobacterium* spp., *Bacteroides* spp., *Faecalibacterium* spp., *Akkermansia* spp., *Roseburia* spp. и метаболической дисфункцией, а также продемонстрирована положительная корреляция между бактериями рода *Ruminococcus* spp., *Fusobacterium* spp. и *Blautia* spp. и развитием МС. Результаты некоторых исследований свидетельствуют о более высоком разнообразии и количестве бактерий типа *Mycoplasmata* (*Tenericutes*) у здоровых лиц по сравнению с пациентами с МС. [62] Авторы другого исследования продемонстрировали взаимосвязь типа *Mycoplasmata* (*Tenericutes*) с ожирением. [185] Несколько более поздних мета-анализов подтвердили снижение альфа-разнообразия бактерий (количества разных видов в отдельном сообществе или образце) при ожирении. [103, 181] Крупные метагеномные исследования, проведенные в Китае и Европе, также задокументировали нарушения микробного состава кишечника, связанные с

ожирением и СД2. Общим выводом этих исследований было снижение количества микроорганизмов, продуцирующих бутират и увеличение числа УПМ. [25, 137, 177] Основные метаболиты кишечного происхождения, такие как КЖК, могут участвовать в развитии ИР и контроле гликемии. Высказано предположение о том, что повышение активности бактерий, продуцирующих КЖК - бутират и пропионат, может улучшить гликемию за счет увеличения кишечного и снижения печеночного глюконеогенеза, а также уменьшения массы тела. Однако, следует заметить, что различия в качественном составе бактериальных сообществ и специфических таксонах довольно сильно различаются в разных исследованиях и не демонстрируют статистически значимой общей тенденции.

Научный интерес представляют данные о возникновении ожирения у безмикробных мышей после трансплантации им кишечной микробиоты (ТКМ) от грызунов с ожирением. [177] Это также может свидетельствовать об участии микробиоты кишечника в развитии метаболических нарушений, в частности ожирения. В исследованиях на людях показано, что ТКМ здоровых доноров улучшала периферическую чувствительность к инсулину и снижала уровень гликированного гемоглобина у пациентов с МС, однако разные методики ТКМ и ограниченность количества исследований не позволяют сделать однозначный вывод о клинической значимости данного метода. [134, 180] Помимо этого, имеются данные о том, что медикаментозная коррекция нарушений КМ пациентов с СД2 ведет к уменьшению гликемии, улучшению метаболических показателей и снижению массы тела. [196] Поскольку СПКЯ рассматривается, как метаболический репродуктивный синдром, то в его развитии также могут играть роль нарушения микробного состава кишечника. В последнее десятилетие данный аспект проблемы является весьма актуальным и перспективным для разработки новых подходов к терапии, в связи с чем неуклонно растет число научных исследований и публикаций на данную тему.

### 1.3 Особенности кишечной микробиоты при СПКЯ

В 2012 году группой австралийских ученых была предложена теория «DOGMA» (Dysbiosis of Gut Microbiota), согласно которой индуцированный диетой дисбиоз кишечника, может приводить к дисфункции кишечного барьера и выходу эндотоксина (ЛПС) в кровоток – эндотоксемии – с последующим развитием ХСВ, ИР и ГА, характерной для СПКЯ. [175] Подтверждением этой теории могут служить результаты исследований, проведенные на мышинных моделях с летрозол-индуцированным СПКЯ, для которых были характерны типичные метаболические нарушения в виде абдоминального ожирения, ИР и дислипидемии. [82, 83, 159] В одном из таких исследований обнаружены значительные изменения КМ в виде увеличения количества бактерий порядка *Bacteroidales* (тип *Bacteroidota*) и снижения бактерий порядка *Eubacteriales* (*Clostridiales*) (тип *Bacillota*), которые коррелировали с увеличением веса мышей с летрозол-индуцированным СПКЯ по сравнению с группой плацебо. Другими исследователями на мышинных моделях СПКЯ показано увеличение в кишечнике численности бактерий рода *Prevotella* (тип *Bacteroidota*) и снижение бактерий рода *Lactobacillus*, *Ruminococcus* и *Clostridium*. Выявленный дисбиоз был связан с повышенным уровнем андрогенов, нарушением эстрального цикла мышей и морфологическими изменениями яичников. Также сообщалось, что микробиота кишечника беременных женщин заметно меняется к третьему триместру за счет значительных гормональных изменений. [176] Кроме того, на мышинной модели показано, что развитие СД зависит от уровня стероидных гормонов. У самок мышей и кастрированных самцов развивался СД, тогда как некастрированные самцы и самки после терапии тестостероном или пересадки кишечной микробиоты от самцов демонстрировали резистентность к нему. [13] Авторы делают вывод о том, что стероидные гормоны и бактериальный состав кишечника могут оказывать взаимное влияние друг на друга. Эти данные позволили предположить наличие дисбаланса КМ и у женщин с СПКЯ. Дальнейшие исследования продемонстрировали различия в микробном составе кишечника между пациентками с СПКЯ и здоровыми женщинами репродуктивного возраста. Так, группа австрийских авторов Lindheim et al. одна из

первых задалась целью исследовать связь КМ с метаболизмом глюкозы, уровнем липидов, стероидных гормонов и транслокацией бактериальных продуктов через кишечный барьер у женщин с СПКЯ. В пилотном исследовании, проведенном с участием 24 пациенток с СПКЯ и 16 здоровых женщин, получены данные о статистически значимом снижении (15%) биоразнообразия бактерий при СПКЯ, схожее с ранее установленным у пациенток с МС. Выявлено более низкое количественное содержание трех бактериальных таксонов: типа *Mycoplasmatota (Tenericutes)*, порядка ML615J-28 (принадлежащего к типу *Mycoplasmatota*) и семейства S24-7 (принадлежащего к типу *Bacteroidota*), без взаимосвязи с ИМТ и чувствительностью к инсулину. Ввиду наличия у 42% пациенток метаболически «мягкого» неандрогенного фенотипа D, авторы делают вывод о том, что, даже при незначительных метаболических нарушениях и нормальном ИМТ могут наблюдаться изменения КМ. [98] Данное исследование показало также значительное повышение ряда маркеров дисфункции кишечного барьера и воспаления: зонулина, (белок, обратимо регулирующий кишечную проницаемость), кальпротектина (специфический маркер воспаления кишечника), ЛПС и количества лимфоцитов в крови, которые были связаны с составом микробиоты кишечника. Это подтверждает теорию «DOGMA» о взаимосвязи механизмов нарушения кишечного барьера – эндотоксемии – воспаления с развитием СПКЯ.

Более низкое разнообразие и снижение численности бактерий типа *Mycoplasmatota (Tenericutes)*, связанное с избыточной продукцией ЛПС и метаболическими нарушениями в кишечнике пациентов с МС по сравнению со здоровыми людьми, позже было обнаружено еще несколькими авторами. [25, 95] Однако, последующие исследования в этом направлении не выявили четких закономерностей, позволяющих сделать однозначные выводы. Так, например, в работе американских авторов продемонстрировано доминирование одних видов бактерий из типа *Bacteroidota (Porphyromonas spp., Bacteroides coprophilus)* и *Bacillota (Blautia spp. и F. prausnitzii)* и снижение других видов из типов *Bacteroidota (Odoribacter spp.)* и *Bacillota (Anaerococcus spp., Roseburia spp.,*

*Ruminococcus bromii*) у пациенток с СПКЯ. [172] Авторы другого сравнительного исследования при СПКЯ выявили повышенное количество бактерий типа *Bacteroidota* при снижении родов *Prevotella* и *Faecalibacterium* [26] В проведенном китайскими учеными исследовании было установлено снижение количества *Faecalibacterium* spp., *Blautia* spp. (тип *Bacillota*) и *Bifidobacterium* spp. (тип *Actinomycetota*), и повышение *Parabacteroides* spp. (тип *Bacteroidetota*) и *Clostridium* spp. (тип *Bacillota*) у женщин с СПКЯ. [198] Сообщается также о том, что кишечная микробиота женщин с ожирением и пациенток с СПКЯ, независимо от их массы тела, схожа по композиционному составу, характеризуется снижением количества бактерий рода *Akkermensia* spp. и *Ruminococcus* spp. (тип *Bacillota*), и увеличением числа ЛПС-продуцирующих грамотрицательных бактерий родов *Bacteroides* и *Escherichia / Shigella* (тип *Bacteroidota*). [101]

Помимо качественных изменений кишечной микробиоты, при СПКЯ почти во всех исследованиях выявлено снижение альфа-разнообразия бактерий (количество разных видов в отдельном сообществе или образце), и разнонаправленные изменения бета-разнообразия (разнообразие между сообществами). Предполагают, что снижение бактериального разнообразия может приводить к нарушению функции кишечника и развитию метаболических нарушений у женщин с СПКЯ. В нескольких мета-анализах уже была показана взаимосвязь снижения альфа-разнообразия микробиоты кишечника с ожирением. [69, 133] Механизм развития гормональных и метаболических нарушений у пациенток с СПКЯ при нарушении баланса микробных сообществ кишечника пока недостаточно изучен. Существует несколько предположений, основанных на данных проведенных исследований, объясняющих данный процесс. Согласно мнению большинства авторов, дисбиоз кишечника путем активации иммунной системы и индукции системного хронического воспаления может вызывать ИР с последующей гиперпродукцией андрогенов, нарушением фолликулогенеза и формированием СПКЯ. В основу этой гипотезы положены данные о нарушении баланса симбионтов и УПМ. Под воздействием симбионтов увеличивается продукция муцина бокаловидными клетками кишечной стенки, что снижает ее проницаемость. Чрезмерное же

количество УПМ увеличивает проницаемость кишечной стенки, способствуя попаданию ЛПС в системный кровоток с развитием эндотоксемии, которая в свою очередь может вызывать активацию клеточного иммунитета, индукцию синтеза провоспалительных цитокинов, приводя к хроническому субклиническому воспалению, ассоциированному с формированием ИР на пострецепторном уровне.

Взаимосвязь дисбиоза кишечника с ИР подтверждают данные о том, что введение ЛПС, продуцируемого грамотрицательными бактериями, в кровоток мышей вызывало повышение уровня глюкозы и инсулина натощак. [126] Показано также, что применение антибиотика снижало содержание грамотрицательных бактерий в слепой кишке, уменьшало абсорбцию эндотоксина, степень выраженности системного воспаления, что сопровождалось повышением чувствительности к инсулину. [58] Некоторые авторы связывают хроническое субклиническое воспаление, характерное для СПКЯ, и активацию иммунной системы с генетически детерминированным нарушением синтеза провоспалительных цитокинов (ФНО-альфа и ИЛ-6), активация которых может снижать защитный барьер кишечника. [43, 87]

Имеется и другая точка зрения на взаимосвязь КМ с СПКЯ. Согласно ей, нарушение микробного состава кишечника и его метаболиты вызывают ИР и ГИ, стимулируют секрецию пептидов кишечника и регулируют активацию путей воспаления. Показано, что при дисбиозе кишечника нарушается секреция некоторых медиаторов сигнальных путей кишечник-мозг, таких как серотонин, грелин и пептид YY, участвующих в регуляции аппетита, энергетическом гомеостазе и секреции ЛГ, что может приводить к метаболическим нарушениям у пациенток с СПКЯ. [88, 90] Однако в настоящее время пока недостаточно данных, чтобы можно было однозначно судить о направленности взаимосвязи между кишечной микробиотой, медиаторами оси кишечник - мозг и СПКЯ.

Стоит упомянуть также о некоторых исследованиях, которые позволили сделать предположение, что андрогены могут способствовать развитию СПКЯ за счет регуляции состава микробиоты кишечника. [80, 153, 170] Установлено, что изменения в микробиоте кишечника связаны с ГА при СПКЯ. В частности,

установлена положительная корреляция разнообразия бактерий кишечника с уровнем тестостерона и индексом свободных андрогенов, и отрицательная - с концентрацией эстрадиола. Однако не ясно, что является причиной, а что - следствием. Авторы пришли к заключению, что половые стероиды могут напрямую влиять на состав кишечной микробиоты, изменяя активность бета-глюкуронидазы, регулируя проницаемость кишечника или активируя стероидные рецепторы. Хотя и эта гипотеза до сих пор не подтверждена. Приведенные данные свидетельствуют о том, что необходимы дальнейшие исследования для более детального изучения механизмов взаимосвязи нарушений микробиоты кишечника с формированием СПКЯ.

#### **1.4 Перспективные направления терапии СПКЯ**

Вопрос о наиболее рациональных подходах к терапии СПКЯ до сих пор остается предметом дискуссий. Прием комбинированных оральных контрацептивов способствует регуляции цикла и снижению ГА и признаков андрогензависимой дерматии, однако, как правило, не дает стимулирующего эффекта на их отмену в виде регуляции менструального цикла, а в ряде случаев может усугублять имеющиеся метаболические нарушения. Назначение прогестагенов приводит к закономерной регуляции менструального цикла, но не сопровождается коррекцией биохимической и клинической ГА. Назначение инсулиносенситайзеров снижает степень выраженности метаболических нарушений, но приводит к регуляции менструального цикла только у каждой второй пациентки с СПКЯ [1,2]. В связи с этим вполне обосновано продолжается поиск новых подходов к терапии СПКЯ.

Особый интерес представляют продолжающиеся исследования эффективности и механизма действия метформина в виду плеiotропности его влияния на организм. Хорошо известно о его положительном воздействии на метаболизм глюкозы за счет снижения глюконеогенеза в печени, уменьшения ее абсорбции в кишечнике, увеличения ее периферической утилизации, а также посредством увеличения секреции глюкагоноподобного пептида-1. [142] Недавние исследования показали, что метформин может также снижать выраженность

хронического воспаления как косвенно за счет улучшения метаболических параметров, так и напрямую за счет своего противовоспалительного действия. [19]

Коррекция гиперандрогении метформином в основном опосредована повышением чувствительности к инсулину, что не только сокращает синтез андрогенов, но и повышает продукцию ПССГ, что снижает уровень свободных андрогенов в крови. [125] Кроме того исследования *in vivo* показали его прямое ингибирующее действие на стероидогенез в культуре клеток теки. [76, 108] Снижение уровня андрогенов и нормализация величины ЛГ приводили к восстановлению овуляции и ритма менструаций у большинства пациенток с СПКЯ, что привело к его использованию в терапии ановуляторного бесплодия. Эффект метформина в виде повышения частоты овуляции, улучшения клинических показателей беременности и усиления действия кломифена цитрата в настоящее время широко применяется в протоколах стимуляции овуляции и программах ВРТ. Тем не менее, регуляция менструального цикла на фоне метформина наблюдается только у каждой второй пациентки и не связана с наличием метаболических нарушений. [4] Это ставит перед исследователями задачу по поиску методов увеличения эффективности терапии. Изучение изменений состава КМ пациенток с СПКЯ открывает новые возможности поиска предикторов эффекта метформина, а также может расширить знания о его механизмах действия и побочных явлениях.

К настоящему времени уже накоплено достаточно большое количество данных о влиянии метформина на состав КМ у пациентов с СД 2 типа. Мета-анализ, основанный на результатах обследования 199 пациентов с СД 2 типа и 544 здоровых людей, продемонстрировал положительные изменения бактериального состава кишечника пациентов, пролеченных метформином. [57] Показано, что количественное содержание бактерий, вырабатывающих КЖК (*Roseburia* spp., *Subdoligranulum* spp. и *Clostridiales* spp.) у таких пациентов было выше по сравнению с группой пациентов, не получавших терапию. Это, по мнению авторов, способствует поддержанию целостности кишечного барьера, снижению местного воспаления и абсорбции липидов, а также может оказывать положительный эффект на уровень глюкозы в организме. Однако у пациентов, пролеченных метформином,

в кишечнике был обнаружен повышенный рост *Escherichia* spp., ассоциированный с увеличением синтеза эндотоксинов, что может провоцировать побочные эффекты препарата со стороны ЖКТ. Помимо этого, в исследовании на мышах, было выявлено увеличение численности бактерий рода *Akkermansia* после терапии метформином, несмотря на высокожировую диету. [154]

Тем не менее, публикации, посвященные роли изменений КМ в коррекции метаболических нарушений при СПКЯ, единичны. Недавно китайские авторы сообщили о положительном влиянии метформина на КМ 15-ти пациенток с СПКЯ наряду со схожими результатами у 14-ти пациенток, принимавших комбинацию метформина с эксенатидом в течение 3 месяцев. Помимо улучшения метаболических параметров, в обеих группах обнаружено увеличение численности симбионтов (*Bacteroidetes*, *Proteobacteria*, *Hungatella*, *Phocaeicola* и *Anaerobutyricum*), а также повышение уровня биоразнообразия на фоне 2-х видов терапии. [61]

Таким образом, предполагается эффект метформина, опосредованный влиянием на КМ, хотя механизмы, лежащие в его основе, подлежат более детальному изучению.

Помимо препаратов, воздействие которых на КМ только начинает изучаться, безусловно, интерес представляют методы, уже применяемые в клинической практике для восстановления баланса микробных сообществ различных биотопов организма, в частности – препараты живых микроорганизмов (пробиотики). Первые научные публикации о результатах применения пробиотиков у пациенток с метаболическими нарушениями появились в 2010 году. Показано, что четырехнедельный прием *Lactobacillus acidophilus* (считается продуцентом КЖК) улучшает чувствительность тканей к инсулину у пациентов с СД 2 типа. [14] Этот эффект авторы связывали не только с иммуномодулирующим действием *Lactobacillus*, но и с их конкурентным подавлением грамотрицательных бактерий и снижением поступления ЛПС в системный кровоток. На этом фоне подавляется системное воспаление и повышается чувствительность тканей к инсулину. Кроме того, *Lactobacillus* spp. могут снижать всасывание в кишечнике наиболее

энергоемких веществ, тем самым препятствуя развитию ожирения. [14] Установлено, что пробиотики оказывают благоприятное влияние на метаболический профиль. Так, двенадцатинедельный курс пробиотиков снижает уровень глюкозы, инсулина, индекс НОМА, содержание ТГ и ЛПОНП у пациенток с СПКЯ. [9] Другими исследователями также отмечен позитивный эффект 8-недельного приема пробиотических добавок (*L. casei*, *L. acidophilus*, *L. rhamnosus*, *L. bulgaricus*, *Bifidobacterium breve*, *Bifidobacterium longum* и *Streptococcus thermophiles*) в виде снижения уровня глюкозы и инсулина в сыворотке крови пациенток с СПКЯ. [16] В мета-анализе, основанном на результатах шести РКИ, продемонстрирован положительный эффект пробиотиков при СПКЯ на липидный спектр крови и уровень инсулина натощак, при отсутствии значительного влияния на индекс НОМА, уровень высокочувствительного СРБ, а также антропометрические данные, включая вес, ИМТ и окружность талии. [94] В то же время имеются и противоположные данные. В частности, в исследовании Zhang и др. было показано, что 10-недельная терапия пробиотиками у женщин с СПКЯ никак не оказала существенного влияния на маркеры ИР и антропометрические показатели. [198] Можно полагать, что разноречивость приведенных данных является следствием различий в использованных пробиотических штаммах бактерий.

Другим перспективным методом коррекции нарушений КМ может быть трансплантация кишечной микробиоты от здоровых доноров. Эта процедура имеет особое значение в лечении пациентов с псевдомембранозным колитом, поскольку может восстановить нарушенное приемом антибиотиков микробное сообщество пациента. ТКМ активно изучается в рамках терапии ВЗК, аутоиммунных, гематологических, нейродегенеративных заболеваний и даже онкологии. [3, 23, 139] Однако трудоемкость ТКМ, сложности в отборе доноров и риски побочных коллатеральных эффектов не позволяют на данном этапе внедрить ее в широкую клиническую практику.

Ввиду индивидуальных и групповых особенностей микробного репертуара кишечника подробные представления об особенностях состава КМ и

функциональной роли конкретных микроорганизмов в норме и патологии позволят разработать новые подходы к коррекции микробиоты кишечника.

Таким образом, СПКЯ представляет собой гетерогенное заболевание, характеризующееся не только репродуктивными, но и метаболическими нарушениями, ассоциированными с большим спектром долгосрочных осложнений, прогнозирование возникновения которых до сих пор является предметом дискуссий. Хотя уже известны некоторые механизмы его формирования, отсутствие эффективной патогенетической терапии создает предпосылки к дальнейшим исследованиям в данной области, а многогранность профилей, изменчивость и динамичность КМ под влиянием различных факторов, представляет новый спектр возможностей для лечения данного заболевания.

## Глава 2. Материалы и методы исследования.

### 2.1. Материалы исследования.

Исследование проводилось на базе отделения гинекологической эндокринологии (рук. к.м.н. Сметник А.А.) и института микробиологии, антимикробной терапии и эпидемиологии (директор член-корр. РАН, д.м.н., доцент Т.В. Припутневич) ФГБУ «НМИЦ АГП им. В.И. Кулакова» Минздрава России (директор академик РАН, д.м.н., профессор Сухих Г.Т.) с ноября 2019 года по декабрь 2022 года.

Для решения поставленных задач проведено проспективное когортное исследование. Включено 270 пациенток с СПКЯ и 30 соматически здоровых женщин без нарушений репродуктивной функции, сопоставимых по возрасту и ИМТ ( $p > 0,05$ ), подписавших информированное согласие на участие в исследовании, которое было одобрено комиссией по этике биомедицинских исследований при ФГБУ «НМИЦ АГП им. В.И. Кулакова» Минздрава России (протокол № 8 от 31 октября 2019 г.).

Диагноз СПКЯ устанавливался согласно клиническим рекомендациям на основании Роттердамского консенсуса при наличии как минимум двух из трех критериев диагностики. [203] В зависимости от их сочетания определялся один из четырех репродуктивных фенотипов: фенотип А диагностировался при сочетании гиперандрогении, олигоменореи и поликистозной морфологии яичников, фенотип В – при гиперандрогении и олигоменорее, фенотип С – при гиперандрогении и поликистозной морфологии яичников, фенотип D – при олигоменорее и поликистозной морфологии яичников.

*Критерии включения в группу СПКЯ:*

- Клинико-лабораторные признаки СПКЯ, установленные на момент обращения в Центр.
- Возраст от 18 до 35 лет.
- Отмена гормонотерапии, терапии инсулиносенситайзерами, пробиотиками и антибиотиками за три месяца до проводимого исследования.

- Отсутствие сопутствующей эндокринной и некомпенсированной экстрагенитальной патологии.

- Наличие информированного согласия на участие в исследовании, одобренном этическим комитетом Центра.

*Критерии невключения из группы СПКЯ:*

- Андроген-секретирующие опухоли яичников.
- Наличие некомпенсированной эндокринологической патологии.
- Врожденная гиперплазия коры надпочечников по данным генетического скрининга (СУР-21), синдром Кушинга.

- Прием в течение 3-х месяцев до включения в исследование гипополидемических, гормональных препаратов, антибиотиков, пробиотиков и инсулиносенситайзеров.

- Гастроэнтерологические заболевания, поражающие кишечник.
- Обострение хронических воспалительных заболеваний различной локализации и этиологии.

- Острые воспалительные заболевания ЖКТ и мочеполовой системы менее чем за три месяца до включения в исследование.

*Критерии исключения из группы СПКЯ:*

- Отсутствие возможности продолжить проведение всех мероприятий, запланированных в исследовании со стороны пациента.

- Беременность.
- Острое воспалительное заболевание ЖКТ или любой другой локализации, требующее приема антибактериальной терапии;

- Нежелательные реакции на фоне терапии.
- Отказ пациентки от дальнейшего участия в исследовании.

*Критерии включения в группу сравнения:*

- Возраст от 18 до 35 лет.
- Регулярный менструальный цикл, отсутствие клинической ГА.

- Отмена гормонотерапии, терапии пробиотиками и антибиотиками за три месяца до проводимого исследования.
- Отсутствие гинекологической патологии, патологии ЖКТ и воспалительных заболеваний различной этиологии.
- Наличие информированного согласия на участие в исследовании, одобренном этическим комитетом Центра.

*Критерии невключения в группу сравнения:*

- Гормонально-ассоциированные нарушения функции репродуктивной системы.
- Гастроэнтерологические заболевания, поражающие кишечник.
- Обострение хронических воспалительных заболеваний различной локализации и этиологии.
- Острые воспалительные заболевания ЖКТ и мочеполового тракта менее чем за три месяца до включения в исследование.
- Прием гормональных препаратов, инсулиносенситайзеров, пробиотиков и антибиотиков в течение трех месяцев до включения в исследование.

## 2.2 Методы исследования.

Всем участницам исследования проведено обследование согласно протоколу, приведенному в таблице 2.

Таблица 2

### Протокол исследования

Метод исследования	Группа сравнения	Группа СПКЯ (первично)	Группа СПКЯ (через 6 мес. терапии)
Общеклинические методы	+	+	+
УЗИ органов малого таза	+	+	+

Определение АМГ, ЛГ, ФСГ, пролактина, ТТГ, ПССГ, Тобщ, Тсв, А, 17-ОП, ИСА	-	+	+
Определение адипонектина, лептина, СРБ, IL-1, IL-6, TNF- $\alpha$	+	+	+
2-часовой ПГТТ	-	+	-
Исследование липидного спектра крови - ХС, ТГ, ЛПНП, ЛПВП, коэффициента атерогенности	-	+	+
Определение глюкозы и иммунореактивного инсулина с расчетом индекса НОМА	-	+	+
Денситометрия жировой ткани	-	+	+
Оценка микробного состава кишечника с помощью культуромики и ПЦР в реальном времени	+	+	+
Статистические методы обработки данных	+	+	+

### **Общеклинические методы исследования**

При первичном обращении проводили оценку жалоб и сбор анамнеза, включая семейный анамнез и историю приема лекарственных средств.

Анализ менструальной функции включал оценку возраста менархе, длительности межменструальных интервалов по менструальному календарю, оценку ритма менструаций. В случае регулярного цикла проводилось динамическое УЗИ органов малого таза и мониторинг уровня прогестерона в сыворотке крови на 21-22 день менструального цикла. С целью анализа репродуктивной функции выяснялось наличие беременностей, способ их наступления, течение и исходы. При выявлении бесплодия уточнялась его длительность, в случае наличия обследований в соответствии с протоколом

оценивались их результаты. Анализировалось наличие заболеваний репродуктивной системы и ЖКТ, их терапия.

Измерялись антропометрические показатели: рост и вес. Индекс массы тела (ИМТ) рассчитывался по формуле  $\text{вес(кг)}/\text{рост}^2(\text{м}^2)$ . Избыточная масса тела диагностировалась при значении ИМТ от 25 до 30 кг/м<sup>2</sup>, ожирение I степени – при ИМТ от 30 до 35 кг/м<sup>2</sup>, II степени – от 35 до 40 кг/м<sup>2</sup>, III – более 40 кг/м<sup>2</sup>, согласно классификации ВОЗ [195].

Для оценки степени выраженности гирсутизма производился подсчет гирсутного числа (с использованием модифицированной шкалы Ферримана-Голлвея). Оценивалось также наличие акне и алопеции для диагностики гиперандрогении.

Проводилось физикальное обследование с оценкой наличия черного акантоза в качестве клинического признака ИР.

При первичном обращении с помощью бимануального исследования проводилась оценка развития наружных половых органов, характера оволосения, состояния слизистой влагалища и шейки матки в зеркалах, пальпация матки и придатков. Проводился осмотр и пальпация молочных желез. Данные фиксировались в индивидуальной карте пациента.

### **Лабораторные методы исследования**

Исследование гормонального статуса и биохимические исследования проводились на базе научно-диагностической лаборатории ФГБУ «НМИЦ АГП им. В.И. Кулакова» Минздрава России (руководитель д.м.н. Иванец Т.Ю.).

### **Исследование гормонального статуса**

Образцы крови участниц исследования были взяты натощак после ночного голодания на 2-3 день спонтанного или индуцированного приемом гестагенов менструального цикла.

Определение уровня антимюллерова гормона (АМГ), лютеинизирующего гормона (ЛГ), фолликулостимулирующего гормона (ФСГ), эстрадиола (Е2), общего тестостерона (Тобщ), пролактина (ПРЛ), ТТГ и иммунореактивного инсулина в сыворотке крови выполнялось электрохемилюминесцентным методом

на автоматическом иммунохимическом анализаторе «Cobas e411» (Roche Diagnostics GmbH, Германия) с использованием коммерческих наборов данного производителя. Определение уровня андростендиона (А) и ПССГ выполнялось иммунохемилюминесцентным методом на автоматическом иммунохимическом анализаторе «IMMULITE®2000» (Siemens, США). Определение 17-ОН-прогестерона (17-ОП) и свободного тестостерона (Тсв) проводили твердофазным иммуноферментным методом с помощью коммерческих наборов «ДРГ 17-α-ОН-Прогестерон ИФА» (DRG Diagnostic, США) и «Free Testosterone ELISA» ("Диагностикс Биохим Инк.", Канада). Индекс свободных андрогенов (ИСА) рассчитывался по формуле  $(Тобщ/ПССГ)*100$ . Определение лептина и адипонектина проводили иммуноферментным методом с помощью коммерческих наборов «BioVendor» и «DBC».

### Биохимические исследования

Биохимические исследования производили фотометрическими и турбидиметрическими методами на автоматических анализаторах ВА-400 (Biosystems, Испания). Определяли глюкозу, общий холестерин (ХС), триглицериды (ТГ), ХС липопротеидов высокой плотности (ЛПВП), ХС липопротеидов низкой плотности (ЛПНП), СРБ. Коэффициент атерогенности (КА) рассчитывался по формуле:  $КА = (ХС - ЛПВП)/ЛПВП$ .

Стандартизацию и контроль качества биохимических исследований проводили в соответствии с требованиями ФСВОК. При анализе данных использовали нормативные показатели (таблица 3), принятые для оценки дислипидемий (рекомендации 1998г. Европейского общества кардиологов).

Таблица 3

### Нормативные значения показателей липидограммы

Гормональное исследование (единицы измерения)	Нормативные показатели
ХС (моль/л)	3,1-5,2
Триглицериды (моль/л)	0,7-1,7

ЛПВП (моль/л)	0,9-1,8
ЛПНП (моль/л)	0-3,9
Коэффициент атерогенности	2,0-3,0

Нарушения углеводного обмена и ГИ диагностировали на основе результатов перорального 2-часового глюкозотолерантного теста (ГТТ) с нагрузкой глюкозой 75 г. Уровни глюкозы и ИРИ определяли натощак, а также каждые 60 мин в течение 2 ч исследования. Была рассчитана модель оценки чувствительности к инсулину (НОМА-IR): глюкоза натощак (ммоль/л) × инсулин натощак (мкЕД/мл)/22,5. Индекс НОМА более 2,7 рассматривался как критерий ИР [163].

### **Иммунологические исследования**

Иммунологические исследования проводились на базе лаборатории клинической иммунологии ФГБУ «НМИЦ АГП им. В.И. Кулакова» Минздрава России (руководитель д.м.н. Кречетова Л.В.).

Исследование цитокинов IL-1, IL-6 и TNF- $\alpha$  выполнялось в сыворотке крови электрохемилюминесцентным методом на автоматическом иммунохимическом анализаторе «Cobas e411» (Roche Diagnostics GmbH, Германия) с использованием коммерческих наборов данного производителя.

### **Ультразвуковое исследование органов малого таза**

УЗИ органов малого таза проводилось на базе отдела ультразвуковой и функциональной диагностики ФГБУ «НМИЦ АГП им. В.И. Кулакова» Минздрава России (руководитель д.м.н. Сенча А.Н.).

Трансвагинальное ультразвуковое исследование выполнялось на аппарате 2000 Toshiba SSA-240 (Япония) конвексным датчиком частотой 8 МГц на 5-7 день спонтанного или индуцированного приемом прогестагенов менструального цикла. При проведении УЗИ органов малого таза проводилась оценка положения и размеров матки, структуры миометрия (наличие миоматозных узлов, аденомиоза, рубцов). Особое внимание обращалось на толщину и структуру эндометрия для исключения гиперплазии эндометрия. Оценивались размеры яичников, состояние фолликулярного аппарата, наличие объемных образований. Согласно клиническим

рекомендациям «Синдром поликистозных яичников» от 2021 г., использовались следующие ультразвукографические критерии поликистозных яичников: наличие  $\geq 20$  фолликулов диаметром 2-9 мм в любом яичнике и/или увеличение объема любого яичника  $\geq 10$  см<sup>3</sup> (при отсутствии желтого тела, кист или доминантных фолликулов) [203].

### **Исследование композиционного состава тела**

Исследование проводилось на базе отделения лучевой диагностики ФГБУ «НМИЦ АГП им. В.И. Кулакова» Минздрава России (руководитель к.м.н. Быченко В.Г.).

Для оценки композиционного состава тела производилась двухэнергетическая абсорбциометрия (денситометрия) на аппарате Lunar model 8743; GE Medical Systems (Madison, WI USA), были проанализированы следующие параметры: процент общей жировой ткани (ОЖТ), масса жировой ткани всего тела и области туловища, соотношение андройдной жировой ткани к гиноидной (А/Г). Процент ОЖТ  $\geq 30$  трактовался как избыток жировой ткани. [29, 40, 67, 157] С помощью программы «CoreScan» определялся объем и масса висцеральной жировой ткани (ВЖТ), ее избыток диагностировался при массе более 235 г. [112]

### **Исследование микробиоты кишечника**

Микробиологические исследования проводились на базе отдела молекулярной микробиологии и биоинформатики института микробиологии, антимикробной терапии и эпидемиологии ФГБУ «НМИЦ АГП им. В.И. Кулакова» Минздрава России (руководитель чл.-корр. РАН, д.м.н., доцент Припутневич Т.В.).

Оценка состава КМ проводилась методом культуромики, с использованием расширенного спектра питательных сред и разными способами культивирования, позволяющими выделять максимально возможное количество живых микроорганизмов, с их последующей идентификацией методом матрично-активированной лазерной десорбционно/ионизационной времяпролетной масс-спектрометрии (MALDI-TOF MS).

Проба фекалий, полученная после естественной дефекации, собиралась в стерильный пластиковый контейнер в количестве 8-10 см<sup>3</sup>. Учитывая присутствие

строгих анаэробов в биологическом образце, контейнер с неплотно закрытой крышкой помещается в пластиковый пакет с газогенерирующим составом для создания анаэробнобиоза (AnaeroGen, Thermo scientific), в соответствии с инструкцией. Биологический материал доставлялся в лабораторию в короткие сроки (не позднее 2-х часов после сбора фекалий).

Культивирование микроорганизмов осуществлялось согласно принятым и специально подобранным методикам с использованием расширенного набора селективных и неселективных питательных сред [1]. Для выделения факультативно-анаэробных и аэробных бактерий использовали колумбийский кровяной агар, хромогенную среду Brilliance, сальмонелла-шигелла-агар, декстрозный агар, среду для выявления и дифференциации *Streptococcus agalactiae* (CHROMagar; Франция), маннит-солевой агар (HiMedia; Индия), энтерококковый агар, агар Эндо (ФГУН «ГНЦ ПМБ»; Россия) и для грибов – агар Сабуро (Oxoid; Великобритания). Лактобациллы культивировали на лактобакагаге (ФГУН «ГНЦ ПМБ»; Россия). Обязательные анаэробы выделяли на прeredуцированном агаре Шедлера с необходимыми добавками, основном агаре для анаэробов, железосульфитном агаре, перфрингенс агаре, селективном агаре для *Clostridioides difficile* (Oxoid; Великобритания); бифидобактерии культивировали на агаре для бифидобактерий (HiMedia; Индия).

Для культивирования микроаэрофилов использовали CO<sub>2</sub>-инкубатор (Jouan; Франция) (концентрация CO<sub>2</sub> – 5%). Строгие анаэробы выращивали в анаэробном боксе (Whitley DG 250 Anaerobic Workstation, Великобритания) в атмосфере трехкомпонентной газовой смеси (N<sub>2</sub> – 80%; CO<sub>2</sub> – 10%; H<sub>2</sub> – 10%). Грибы инкубировали в термостате при 30°C в течение 5 дней. Идентифицировали микроорганизмы методом MALDI-TOF MS с помощью масс-спектрометра MicroFlex с программным обеспечением Maldi BioTyper (Bruker Daltonics; Германия), версия 4.0. Микроорганизм считали идентифицированным до вида с высокой степенью вероятности при значениях SCORE  $\geq 2,0$ .

Для трудноидентифицируемых или неидентифицируемых культур (значение SCORE < 2,0) проводилось секвенирование участка гена 16S рРНК. ДНК выделяли

с использованием набора реагентов для выделения ДНК «Проба-ЦиТо» («ДНК-технология»; Россия).

Определение ДНК кишечно-ассоциированных микроорганизмов (отделы *Bacillota (Firmicutes)*, *Pseudomonadota (Proteobacteria)*, *Bacteroidota (Bacteroidetes)*, *Actinomycetota (Actinobacteria)*, *Fusobacteriota (Fusobacteria)*, *Verrucomicrobiota (Verrucomicrobia)*, *Euryarchaeota*), в том числе грибов рода *Candida*, а также гена метициллинрезистентности *Staphylococcus spp. (mecA)*, *C. difficile* с генами энтеротоксинов А и В (*tcdA*, *tcdB*), *Str. agalactiae* с геном инвазивности (*srr2*) проводилось методом ПЦР в режиме реального времени в препаратах ДНК, полученных из образцов кала исследуемых женщин с использованием разработанного в институте репродуктивной генетики набора реагентов (тест-система) Энтерофлор®-дети (НПО ДНК-Технология, Россия).

### 2.3 Терапия

С целью коррекции метаболической и овуляторной дисфункции пациенткам с СПКЯ, не заинтересованным в гормональной контрацепции, проводилась терапия инсулиносенситайзером метформинном («Глюкофаж Лонг», Merck Sante (Франция)) в суточной дозе 1500 мг (после ее титрования в течение 7 дней) непрерывно в течение 6-ти месяцев. Клинико-лабораторное обследование проводилось до начала терапии, после 3-х и 6-ти месяцев.

Для нормализации состава кишечной микробиоты и оценки ее влияния на эффективность терапии, 30 пациенткам с СПКЯ в дополнение к метформину назначалась терапия пробиотиком «Бак-Сет Форте» ADM PROTEXIN, Ltd. (Великобритания), содержащим *Lactobacillus casei* PXN 37  $5.8 \times 10^8$  КОЕ, *Lactobacillus plantarum* PXN 47  $3.2 \times 10^8$  КОЕ, *Lactobacillus rhamnosus* PXN 54  $3.2 \times 10^8$  КОЕ, *Lactobacillus acidophilus* PXN 35  $1 \times 10^8$  КОЕ, *Lactobacillus bulgaricus* PXN 39  $2 \times 10^7$  КОЕ, *Lactobacillus helveticus* PXN 45  $2 \times 10^7$  КОЕ, *Lactobacillus salivarius* PXN 57  $2 \times 10^7$  КОЕ, *Lactobacillus fermentum* PXN 44  $1 \times 10^7$  КОЕ, *Bifidobacterium bifidum* PXN 23  $1 \times 10^8$  КОЕ, *Bifidobacterium breve* PXN 25  $1 \times 10^8$  КОЕ, *Bifidobacterium longum* PXN 30  $1 \times 10^8$  КОЕ, *Bifidobacterium infantis* PXN 27  $2 \times 10^7$  КОЕ, *Lactococcus lactis ssp. lactis* PXN 63  $4 \times 10^7$  КОЕ, *Streptococcus*

*thermophilus* PXN 66  $4 \times 10^7$  КОЕ. Суточная доза – 4 капсулы в непрерывном режиме в течение 3-х месяцев. Повторное клинико-лабораторное обследование данных пациенток проводилось через 3 месяца комбинированной терапии.

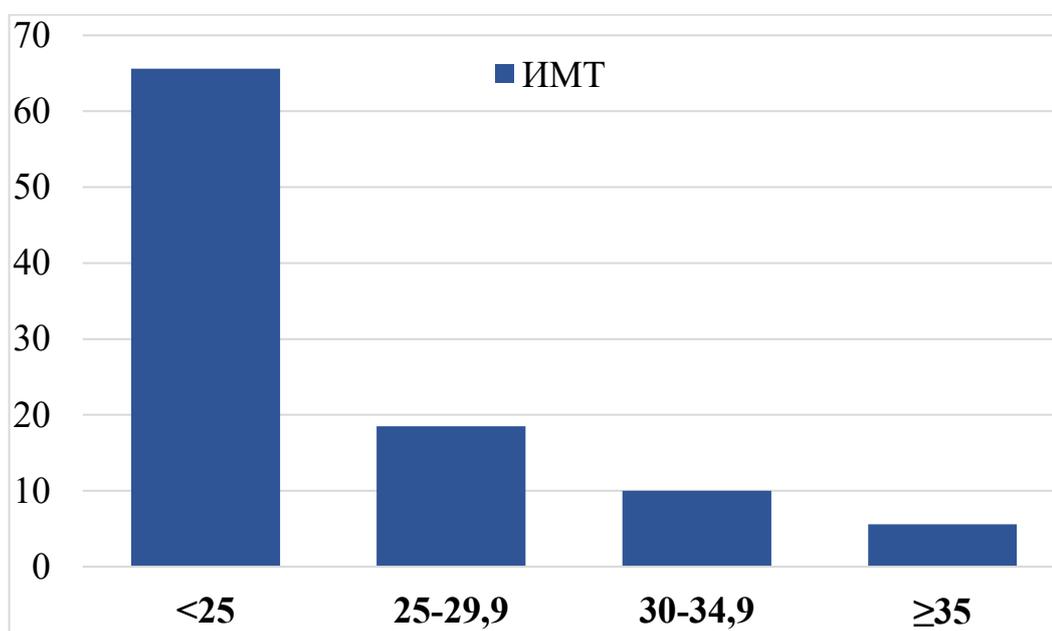
#### 2.4 Статистическая обработка материала

Для статистической обработки данных использовали электронные таблицы «Microsoft Excel» и пакет программы «MedCalc» (MedCalc Software Ltd, version 22.002). Для построения графиков использовали электронные таблицы «Microsoft Excel», программу «MedCalc» и язык статистического программирования «R» в оболочке «RStudio 1.1.463» (USA). Для количественных показателей были рассчитаны: среднее значение (M), среднеквадратическое отклонение (SD), 95% доверительный интервал, медиана (Me), интерквартильный размах ( $Q_{25\%}$ ;  $Q_{75\%}$ ). Для качественных и порядковых показателей - частоты (%). Все полученные количественные параметры были проверены на соответствие нормальному распределению с помощью критерия Шапиро-Уилка. Числовые параметры, имеющие нормальное распределение, представлены в формате M(SD), где M — среднее значение, SD — стандартное отклонение среднего значения. Параметры, имеющие распределение, отличное от нормального, представлены в формате Me ( $Q_{25\%}$ ;  $Q_{75\%}$ ), где Me - медиана, а  $Q_{25\%}$ ; и  $Q_{75\%}$  - верхний и нижний квартили. Для нахождения различий между группами пациентов для нормально распределенных числовых показателей использовали критерий ANOVA (для нескольких групп) и затем применяли попарное сравнение групп с помощью t-критерия Стьюдента для 2-х независимых выборок с поправкой Бонферрони на непрерывность. В случае не подтверждения гипотезы о нормальном распределении для сравнения количественных данных применяли непараметрические методы Краскела-Уоллиса и затем осуществляли попарное сравнение групп с помощью метода U-критерия Манна-Уитни для несвязанных совокупностей. При множественных сравнениях применяли поправку Бонферрони. При проверке равенства дисперсий использовали критерий Левена. Для сравнения дихотомических показателей между независимыми выборками и установления достоверных различий между ними использовали метод Хи-квадрат с поправкой Йейтса на непрерывность, при

попарном сравнении групп использовали точный критерий Фишера для небольших выборок. Для оценки видового богатства рассчитывался индекс Маргалефа по формуле  $D_{Mg}=(S-1)/\ln N$ , где  $S$  - число выявленных видов и  $N$  - общее число особей всех  $S$  видов. Корреляционный анализ проводился с помощью метода Пирсона или непараметрического критерия Спирмена. Для расчета порогового уровня показателей, их специфичности и чувствительности для выявления риска метаболических нарушений был проведен ROC-анализ. Критический уровень значимости при проверке статистических гипотез принимался равным 0,05. Для выявления факторов, определяющих эффективность терапии метформином, проведен регрессионный анализ. Количественная оценка риска проводилась на основании расчета отношения шансов с доверительным интервалом 95%.

### Глава 3. Клиническая характеристика пациенток

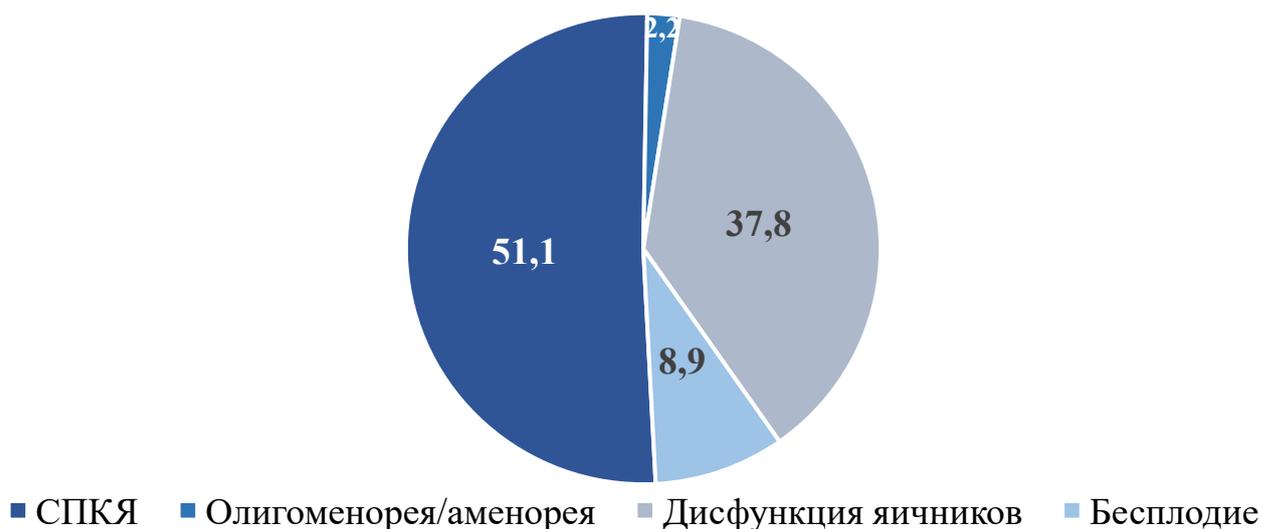
В исследование было включено 270 пациенток с СПКЯ, средний возраст –  $25,9 \pm 5,5$  лет, средний ИМТ –  $24,1 \pm 5,0$  кг/м<sup>2</sup>. Нормальный ИМТ имели 177/270 (65,6%) пациенток, избыточную массу тела – 50/270 (18,5%), ожирение – 43/270 (15,9%). Ожирение I степени – 27/270 (10%), II степени – 15/270 (5,6%), III степени – 1/270 (0,4%) пациентка (рис. 1). В группе сравнения, в которую было включено 30 женщин без СПКЯ, эти показатели составили  $26,6 \pm 5,0$  лет и  $24,4 \pm 4,8$  кг/м<sup>2</sup> соответственно,  $p > 0,05$ .



**Рисунок 1. Распределение пациенток с СПКЯ в зависимости от ИМТ.**

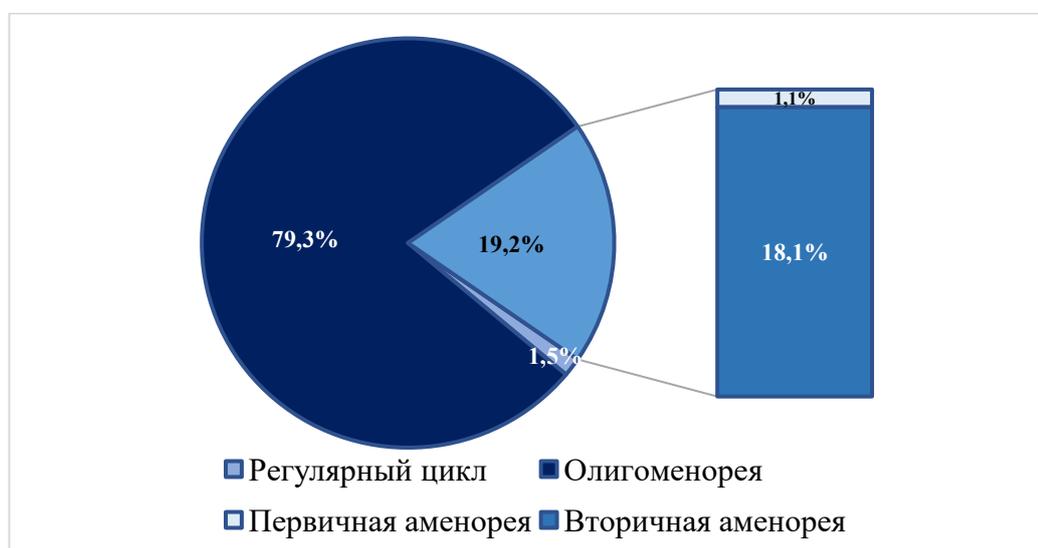
Основной жалобой при обращении за медицинской помощью у 186/270 (68,9%) пациенток были нарушения менструального цикла в виде задержек менструации, у 70/270 (25,9%) – бесплодие, у 14/270 (5,2%) – акне и гирсутизм. Частота жалоб на акне имела тенденцию к снижению с увеличением возраста пациенток, в то время как частота ожирения и избыточной массы тела с возрастом повышалась.

Большинство пациенток – 225/270 (83,3%) – ранее уже обращались к гинекологу в связи с вышеуказанными жалобами. Однако лишь у половины из них был поставлен диагноз СПКЯ, в остальных случаях диагноз звучал как «дисфункция яичников», «бесплодие», «олиго- и аменорея» (рис. 2).



**Рисунок 2. Диагнозы, поставленные пациенткам на момент первичного обращения.**

Более детальный сбор анамнеза позволил выявить нарушения менструального цикла у большинства пациенток (266/270 (98,5%)), соответственно, только у 4-х (1,5%) цикл был регулярный. Олигоменорея наблюдалась у 214/270 (79,3%) пациенток, первичная аменорея – у 3/270 (1,1%), вторичная – у 49/270 (18,1%) пациенток (рис. 3).

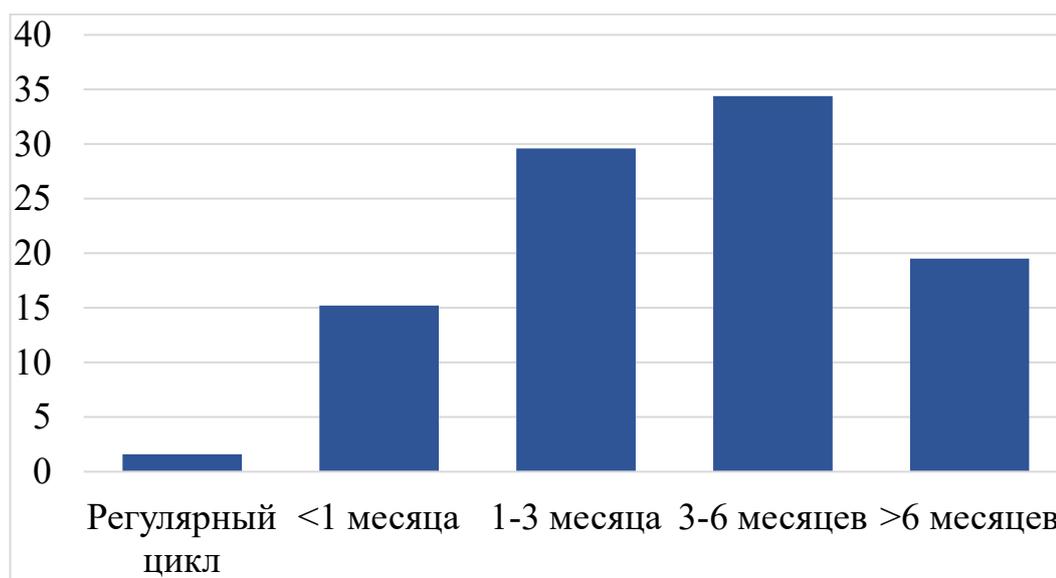


**Рисунок 3. Структура нарушений менструального цикла среди пациенток с СПКЯ.**

Средний возраст наступления менархе составил  $12,9 \pm 1,5$  лет. Дебют олигоменореи совпадал с возрастом менархе у подавляющей части пациенток

(167/214 (78,0%)). Соответственно, вторичная олигоменорея отмечалась у 47/214 (22,0%), средний возраст ее дебюта составил  $22,5 \pm 5,7$  года.

Анализ продолжительности задержек менструации показал, что у каждой 3-й (93/270 (34,4%)) межменструальный интервал составлял от 3 до 6 месяцев, у 80/270 (29,6%) – от 1 до 3 месяцев, реже (41/280 (15,2%)) его длительность не превышала 1 месяца (рис. 4).



**Рисунок 4. Структура межменструальных интервалов пациенток с СПКЯ**

Из 270 пациенток с СПКЯ в беременности были заинтересованы 87 (32,2%), у 70/87 (80,5%) было диагностировано бесплодие, у 68/87 (78,2%) – первичное. В 11/87 (12,6%) случаях оно было ассоциировано в том числе с мужским фактором. Медиана длительности бесплодия составила 2 (1,5;5) года. Беременности в анамнезе были у 44/270 (16,3%) пациенток, но только половина из них закончилась родами – 25/44 (56,8%). В 9/44 (20,5%) случаях был произведен медикаментозный аборт, 10/44 (22,7%) беременностей закончились самопроизвольным выкидышем в сроке от 6 до 8 недель беременности.

Клинические признаки андрогенизации в виде гирсутизма присутствовали у 192/270 (71,1%) пациенток. Среднее гирсутное число по модифицированной шкале Ферримана-Галлвея составило  $8,1 \pm 2,6$  баллов. Жалобы на акне предъявляли 95/270 (35,2%) пациенток. Наиболее часто поражения располагались на коже лица и спины.

Изучение структуры перенесенных заболеваний выявило наибольшую частоту патологии ЖКТ – 80/270 (29,6%) и тонзиллита – 118/270 (43,7%) – у пациенток с СПКЯ (таблица 4, 5). Тем не менее, эти показатели не превышали среднепопуляционных значений, а на момент обследования все пациентки находились в стойкой ремиссии по всем заболеваниям. Из 46 пациенток, которым в анамнезе был диагностирован гастрит, 9/46 (19,6%) ранее получали трехкомпонентную терапию для эрадикации *Helicobacter pylori*. Многие пациентки отмечали жалобы на тревожность, подавленное настроение и усталость (96/270 (35,6%)), однако депрессия диагностирована лишь у 6/270 (2,2%) женщин.

Таблица 4

**Частота сопутствующей патологии у пациенток с СПКЯ в анамнезе**

<b>Заболевание</b>	<b>Частота (n=270)</b>
Поверхностный гастрит	46 (17,0%)
Желчекаменная болезнь	5 (1,9%)
Загиб желчного пузыря	4 (1,5%)
Дискинезия желчевыводящих путей	7 (2,6%)
Непереносимость лактозы	4 (1,5%)
Панкреатит	4 (1,5%)
Хронический тонзиллит	58 (21,5%)
Аллергия (поллиноз, пищевая)	38 (14,1%)
Патология щитовидной железы (ХАИТ, узловой зоб)	14 (5,2%)
Мочекаменная болезнь	6 (2,2%)
Депрессия	6 (2,2%)
Варикозная болезнь нижних конечностей	4 (1,5%)
Гипертоническая болезнь	3 (1,1%)
Мигрень	3 (1,1%)
Бронхиальная астма	3 (1,1%)

Самыми распространенными перенесенными заболеваниями являлись детские инфекции, острый тонзиллит и инфекции дыхательных и мочевыводящих путей. Реже встречались перенесенные острые заболевания ЖКТ: колит, запоры и желчекаменная болезнь, которая привела к холецистэктомии у одной пациентки.

Таблица 5

#### Частота перенесенных заболеваний у пациенток с СПКЯ

Заболевание	Частота (n=270)
Детские инфекции (ветряная оспа, краснуха, корь, инфекционный паротит)	208 (77,0%)
Острый тонзиллит	128 (47,4%)
Инфекции нижних дыхательных путей	61 (22,6%)
Инфекции мочевыводящих путей (пиелонефрит, цистит)	51 (18,9%)
Острый колит	1 (0,4%)
Холецистэктомия	1 (0,4%)
Запоры	8 (3,0%)

В структуре перенесенной гинекологической патологии в анамнезе пациенток с СПКЯ преобладали воспалительные (цервициты, вульвовагиниты) и невоспалительные (эктопия, эктропион, LSIL, HSIL) заболевания шейки матки и влагалища (таблица 6). В 7,8% случаев был выявлен наружный генитальный эндометриоз и аденомиоз, в 2,6% случаев – миома матки. У 9/270 (3,3%) пациенток ранее была выявлена патология эндометрия: в 5/270 (1,9%) случаях – полипы эндометрия, в 4/270 (1,5%) – гиперплазия эндометрия без атипии.

Таблица 6

#### Структура перенесенной гинекологической патологии у пациенток с СПКЯ

Заболевание	Частота (n=270)
Воспалительные заболевания шейки матки и влагалища	83 (30,7%)

Патология шейки матки	48 (17,8%)
Эндометриоз	21 (7,8%)
Фиброзно-кистозная мастопатия	25 (9,3%)
Образования молочных желез (кисты, фиброаденомы)	8 (3,0%)
Миома матки	7 (2,6%)
Полипы эндометрия	5 (1,9%)
Гиперплазия эндометрия	4 (1,5%)

Анализ наследственных заболеваний показал, что в каждом 3-м случае у родственников пациенток первой и второй линии родства наблюдалось ожирение, а в каждом 4-м – СД 2 типа и патология ЖКТ. Нарушения менструального цикла в виде олигоменореи встречалось в 21,1% случаев, бесплодие – в 1,5% случаев.

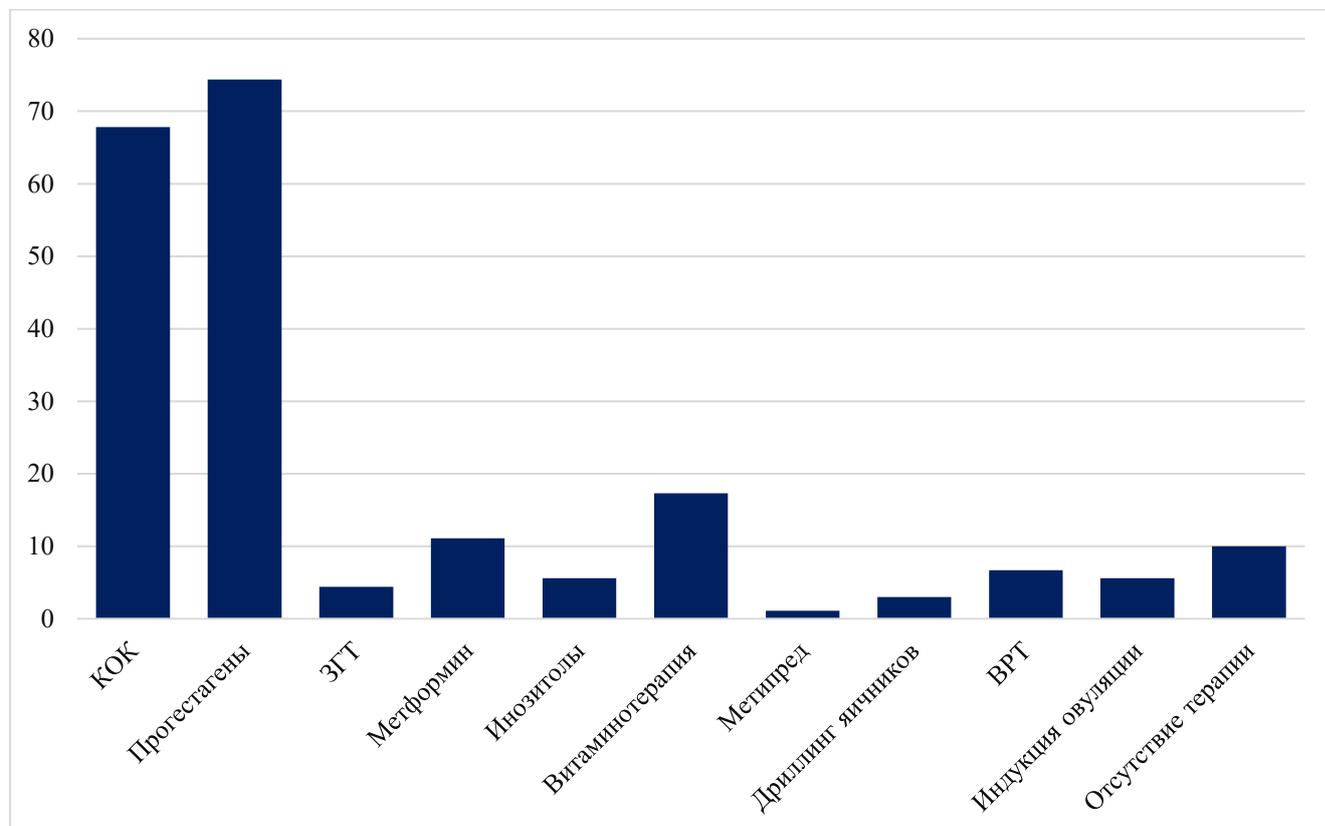
Среди сердечно-сосудистых заболеваний у родственников превалировала гипертоническая болезнь и ишемическая болезнь сердца, однакоотягощенный семейный тромботический анамнез в виде случаев тромбозов, инфарктов, инсультов и тромбоэмболии легочной артерии (ТЭЛА) у родственников до 50 лет встречался лишь в 7,4% случаев (таблица 7).

Таблица 7

**Частота соматической и гинекологической патологии у родственников пациенток с СПКЯ**

<b>Заболевание</b>	<b>Частота (n=270)</b>
Ожирение	85 (31,5%)
СД 2 типа	66 (24,4%)
Патология ЖКТ	59 (21,9%)
Нарушения менструального цикла	57 (21,1%)
Сердечно-сосудистые заболевания до 50 лет	20 (7,4%)
Бесплодие	4 (1,5%)

Подавляющее большинство пациенток (215/270 (79,6%)) ранее периодически получали гормональную и негормональную терапию: 164 (67,5%) – комбинированные оральные контрацептивы (КОК), 201 (74,4%) – гестагены в циклическом режиме. Из 52 пациенток с аменорей 12 ранее получали заместительную гормонотерапию (ЗГТ): фемостон 2. Три пациентки (1,1%) принимали ранее метипред с целью снижения уровня надпочечниковых андрогенов. Средняя продолжительность гормонотерапии составила  $18,3 \pm 12,8$  месяцев. Негормональную терапию получали 85/270 (31,5%) пациенток, из них метформин – 30/85 (35,3%), инозитолы – 15/85 (17,7%), витаминотерапию – 48/85 (56,5%), наиболее часто – в возрасте до 18 лет, средняя продолжительность приема негормональной терапии была  $4,5 \pm 1,3$  месяца. Лапароскопический дреллинг яичников по поводу аменореи и неэффективности консервативной терапии ановуляторного бесплодия был выполнен у 8/270 (3,0%) пациенток. 18/270 (6,6%) пациенток вступали в программы вспомогательных репродуктивных технологий (ВРТ), 15/2270 (5,5%) – получали индукторы овуляции (рис. 5).



**Рисунок 5. Характеристика терапии пациенток с СПКЯ**

## Глава 4. Результаты проведенных исследований

### 4.1 Эндокринно-метаболические особенности пациенток с СПКЯ

#### 4.1.1. Показатели эндокринной функции репродуктивной системы пациенток с СПКЯ

С целью диагностики СПКЯ проводилась оценка гормонального профиля согласно клиническим рекомендациям [203]. У всех женщин уровни пролактина, ТТГ и 17-ОП были в норме и в среднем составили  $253,9 \pm 143,9$  мМЕ/л,  $2,01 \pm 1,82$  мМЕ/л и  $3,73 \pm 1,64$  нмоль/л соответственно (таблица 8).

Таблица 8

#### Гормональный профиль пациенток с СПКЯ

Показатель	Общая группа СПКЯ (n=270)	Нормативные показатели
АМГ, нг/мл	$11,93 \pm 6,09$	0,03–7,37
ЛГ, мЕд/мл	$9,44 \pm 6,14$	1,68–15,0
ФСГ, мЕд/мл	$5,28 \pm 1,47$	1,37–9,9
Пролактин, мЕд/л	$253,9 \pm 143,9$	109–557
17-ОП, нмоль/л	$3,73 \pm 1,64$	1,24–8,24
ТТГ, мЕд/л	$2,01 \pm 1,82$	0,4–4,0
Тобщ, нмоль/л	$1,76 \pm 0,67$	0,38–1,72
Тсв, нг/мл	$2,40 \pm 1,33$	<2,85
Андростендион, нмоль/л	$17,61 \pm 6,7$	1,6–19,0
ИСА	$4,89 \pm 3,4$	0,7 - 8,7%
ПССГ, нмоль/мл	$45,78 \pm 23,87$	18,0–114,0

Уровень ЛГ у пациенток с СПКЯ варьировал от 3,21 до 52,1 мЕд/мл и в среднем составил  $9,44 \pm 6,14$  мЕд/мл, ФСГ –  $5,28 \pm 1,47$  мЕд/мл (таблица 8). Гипогонадотропное состояние не было выявлено ни у одной пациентки. Гиперсекреция ЛГ (выше 15 мЕд/мл) наблюдалась у 33/270 (12,2%) больных, повышения уровня ФСГ не было. Повышение индекса ЛГ/ФСГ более 1

присутствовало у 185/270 (68,5%), снижение менее 1 – у 10/270 (3,7%), нормальный индекс – у 75/270 (27,8%).

По данным исследований и международных клинических рекомендаций [169], повышение уровня АМГ в сыворотке может служить информативным диагностическим критерием СПКЯ. Согласно полученным данным, средний уровень АМГ колебался в зависимости от возраста пациенток и в среднем составил  $11,93 \pm 6,09$  нг/мл. Была проанализирована частота повышения АМГ с учетом возрастных пороговых значений лаборатории [123] (таб. 9). Несмотря на тенденцию к снижению уровня АМГ с возрастом, не выявлено статистически различий по частоте повышения данного показателя в разных возрастных категориях.

Таблица 9

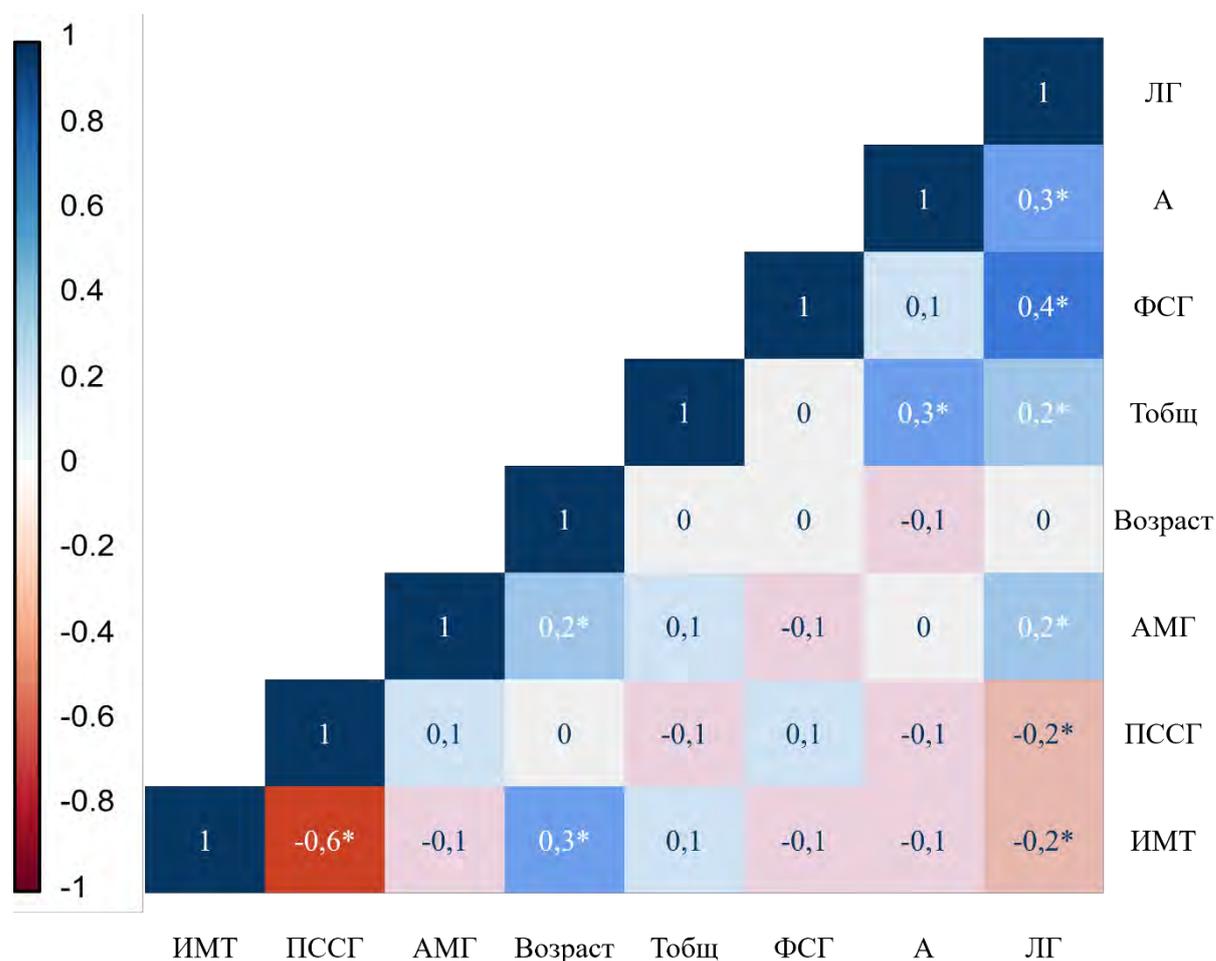
**Частота гиперсекреции АМГ у больных СПКЯ разных возрастов**

<b>Возрастная категория</b>	<b>Количество больных с повышенным уровнем АМГ</b>	<b>Пороговый уровень АМГ</b>
18-19	25/31 (80,7%)	6,4
20-24	68/90 (75,6%)	6,2
25-29	49/68 (72,1%)	5,2
30-34	54/81 (66,7%)	4,1

Средние показатели андрогенного профиля пациенток, включенных в исследование, представлены в таблице 8. Биохимическая гиперандрогения в целом выявлена у 214/270 (79,3%) пациенток, часто в виде сочетанного повышения уровней различных андрогенов. Уровни Тобщ и Тсв были повышены у 146/270 (54,1%) и 98/270 (36,3%) пациенток, уровень А – у 116/270 (43,0%). У 165/270 (61,1%) пациенток уровень ПССГ был менее 50 нмоль/л.

При анализе корреляционных связей между уровнями гормонов обнаружена слабая положительная связь АМГ и ЛГ ( $r=0,180$ ,  $p=0,008$ ). Показатели ЛГ коррелировали с андростендионом ( $r=0,256$ ,  $p=0,0003$ ) и Тобщ ( $r=0,151$ ,  $p=0,028$ ), хотя коэффициенты корреляции были низкими. Отрицательная связь наблюдалась

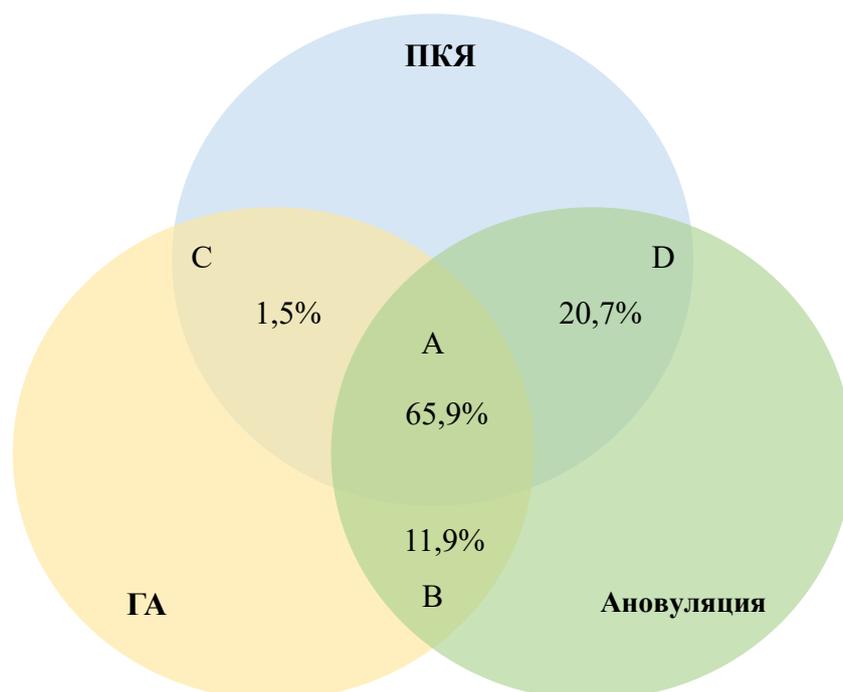
у ЛГ с ИМТ ( $r=-0,241$ ,  $p=0,0003$ ) и ПССГ ( $r=-0,204$ ,  $p=0,004$ ), а также ИМТ и ПССГ ( $r=-0,558$ ,  $p<0,0001$ ). Не обнаружено корреляции андрогенного профиля с ИМТ и возрастом пациенток ( $p>0,05$ ) (рис. 6).



### Рисунок 6. Результаты корреляционного анализа уровней гормонов, ИМТ и возраста пациенток с СПКЯ

При проведении ультразвукового исследования у 238/270 (88,2%) пациенток были выявлены морфологические признаки ПКЯ. В среднем, объем каждого из яичников составил  $12,64 \pm 3,8$  см<sup>3</sup>, а количество фолликулов –  $25,85 \pm 16,82$ .

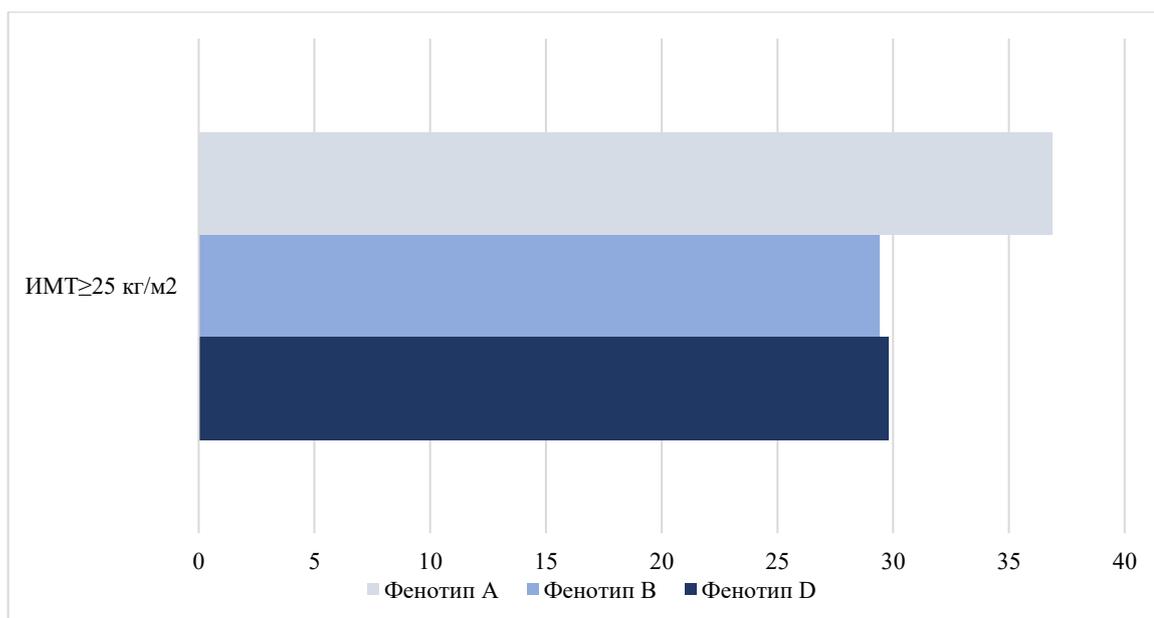
На основании результатов обследования проведена стратификация пациенток на фенотипы. Фенотип А диагностирован у 178/270 (65,9%), реже встречались фенотипы В (32/270 (11,9%)) и D (56/270 (20,7%)), фенотип С присутствовал только у 4/270 (1,5%) пациенток (рис. 7).



**Рисунок 7. Частота и структура фенотипов пациенток с СПКЯ.**

Возраст пациенток с фенотипом А в среднем составил  $26,34 \pm 5,6$  лет, что статистически значимо выше, чем при фенотипе В –  $22,57 \pm 4,1$  лет,  $p=0,0005$ . Этот показатель не отличался от пациенток с другими фенотипами:  $22,67 \pm 2,08$  лет при фенотипе С и  $26,73 \pm 5,51$  лет при фенотипе D ( $p>0,05$ ).

Пациентки с разными фенотипами статистически значимо не отличались по ИМТ, кроме фенотипа С, при котором у 2х пациенток была выявлена избыточная масса тела и ожирение. Однако, в связи с малочисленностью данной группы она была исключена из последующего анализа. Частота избыточной массы тела и ожирения среди фенотипов А, В и D представлена на рисунке 8.



**Рисунок 8. Частота выявления избыточной массы тела и ожирения у пациенток с разными фенотипами**

#### 4.1.2 Метаболические характеристики больных с СПКЯ

СПКЯ ассоциирован не только с репродуктивными, но и с метаболическими нарушениями, и является известным фактором риска СД 2 типа и метаболического синдрома. Оценка показателей углеводного обмена по данным ГТТ выявила НТГ у 44/270 (16,3%) пациенток, ИР и гиперинсулинемию – соответственно у 95/270 (35,2%) и у 111/270 (41,1%). Средние уровни параметров углеводного и липидного спектра приведены в таблице 10.

Таблица 10

**Основные показатели углеводного и липидного спектра крови у пациенток с СПКЯ (n=270)**

Показатель	Уровень в сыворотке крови
Глюкоза натощак, ммоль/л	5,12±0,47
Глюкоза через 1 час, ммоль/л	7,48±1,91
Глюкоза через 2 часа, ммоль/л	6,05±1,45
Инсулин натощак, мкЕд/мл	11,48±7,14
Инсулин через 1 час, мкЕд/мл	97,99±61,28

Инсулин через 2 часа, мкЕд/мл	74,11±54,91
Индекс НОМА	2,66±1,81
ХС (моль/л)	5,0±0,93
Триглицериды (моль/л)	0,99±0,72
ЛПВП (моль/л)	1,59±0,41
ЛПНП (моль/л)	2,42±0,79
Коэффициент атерогенности	2,06±0,86
НТГ	16,3%
ГИ	41,1%
ДЛП	33,3%
ИР (НОМА>2,8)	35,2%

По совокупности данных показателей дислипидемия была выявлена в 90/270 (33,3%) случаях. Чаще всего наблюдалась изолированная гиперхолестеринемия (IIa тип) – у 75/270 (27,8%) пациенток, у остальных диагностирована комбинированная (IIb тип), триглицеридемия (IV тип) и снижение уровня ЛПВП – 15/270 (5,6%).

Сравнение метаболического профиля пациенток с различными фенотипами выявило более высокие уровни глюкозы натощак и индекса НОМА при фенотипе А (5,15±0,45 ммоль/л и 2,68±1,9 соответственно) по сравнению с фенотипом В (4,88±0,41 ммоль/л,  $p=0,0057$  и 1,66±1,38,  $p=0,0043$  соответственно). Остальные метаболические показатели углеводного обмена среди фенотипов не отличались.

При ожирении увеличение индекса ИР присутствовало у 35/43 (81,4%) пациенток, ГИ – у 31/43 (72,1%), в группе с избыточной массой тела эти показатели составили 23/50 (46,0%) и 25/50 (50,0%) ( $p<0,001$  и  $p=0,030$  соответственно), что статистически значимо выше, чем при нормальной массе тела – 36/177 ((20,3%) и 54/177 (30,5%) ( $p<0,001$  и  $p=0,011$  соответственно). При ожирении НТГ было диагностировано у 15/43 (34,9%) пациенток, при избыточной массе тела – у 9/50 (18,0%) ( $p=0,014$ ), при нормальной массе тела – у 19/177 (10,7%) (в сравнении с избыточной массой тела  $p=0,168$ ). Частота ДЛП составила 28/43 (65,1%) у пациенток с ожирением, 17/50 (34,0%) с избыточной массой тела ( $p=0,003$ ) и 44/177

(24,9%) – у пациенток с нормальным ИМТ (при сравнении с пациентками с избыточной массой тела  $p=0,198$ ).

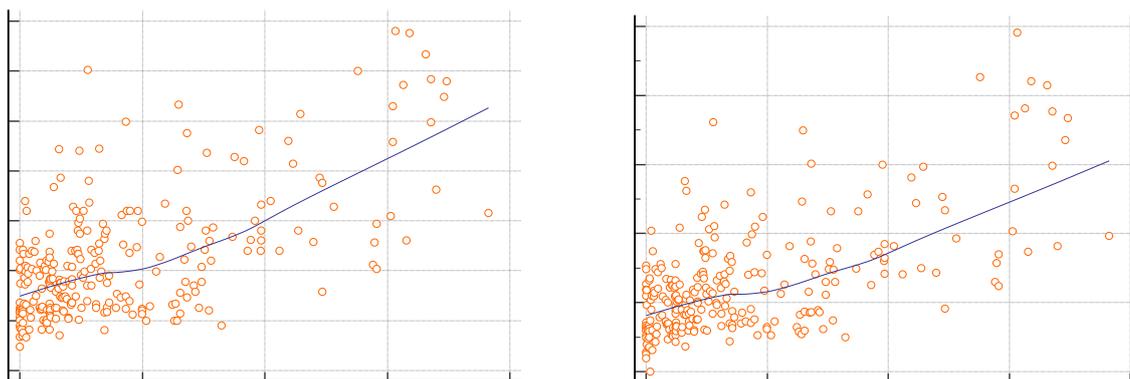
Обнаружена корреляция всех показателей углеводного и липидного обмена с ИМТ у пациенток с СПКЯ ( $p<0,05$ ), наиболее сильная связь наблюдалась с инсулином натощак:  $r=0,633$ ,  $p<0,0001$ . Уровни глюкозы, как натощак, так и через час, и через 2 часа после нагрузки по данным ГТТ имели тенденцию к снижению по мере увеличения возраста пациенток ( $r=0,299$ ,  $p<0,0001$ ,  $r=0,225$ ,  $p=0,0005$ ,  $r=0,159$ ,  $p=0,0142$  соответственно).

**Таким образом,** только у трети пациенток с СПКЯ отмечено наличие избыточной массы тела и ожирения, ассоциированное с метаболической дисфункцией. Тем не менее, при нормальном ИМТ у каждой 5-й была диагностирована ИР, у каждой 3-й – ГИ, а частота НТГ и дислипидемии составила 10% и 25% соответственно и не отличалась от таковой в группе избыточной массы тела ( $p>0,05$ ).

#### 4.1.3 Композиционный состав тела пациенток с СПКЯ

С целью оценки количества жировой ткани и характера ее распределения было проведено исследование композиционного состава тела пациенток с СПКЯ с помощью денситометрии.

По данным денситометрии избыток ОЖТ диагностирован у 200/270 (74,1%) пациенток. При этом среднее ее значение составило  $35,32\pm 7,1\%$ . У 141/200 (70,5%) из них присутствовал избыток ВЖТ, ее средняя масса составила  $443,82\pm 449,05$  г. Прямая корреляция массы ВЖТ выявлена со всеми параметрами углеводного и липидного обмена, наибольшая – с инсулином натощак ( $r=0,596$ ,  $p<0,01$ ) и индексом НОМА ( $r=0,600$ ,  $p<0,01$ ) (рисунок 9). Взаимосвязи параметров жировой ткани с андрогенным профилем обнаружено не было ( $p>0,05$ ), однако ОЖТ и ВЖТ отрицательно коррелировали с ПССГ ( $r=-0,530$ ,  $p<0,0001$  и  $r=-0,495$ ,  $p<0,0001$  соответственно).



**Рисунок 9. Корреляция количества висцеральной жировой ткани с инсулином натощак и индексом НОМА**

При проведении анализа показателей денситометрии среди репродуктивных фенотипов СПКЯ не обнаружено статистически значимой разницы между группами ни по одному из параметров.

В дальнейшем метаболические показатели и количество жировой ткани сравнивались в группах пациенток с нормальным ИМТ, избыточной массой тела и ожирением.

При избыточной массе тела и ожирении все пациентки имели избыток ОЖТ, среднее его значение составило  $41,2 \pm 3,1$  % и  $47,6 \pm 5,4$ % ( $p < 0,001$ ). При нормальной массе тела этот параметр составил  $31,3 \pm 4,3$ %, у некоторых он достигал уровня 42,3%, что выше, чем среднее значения в группе с избыточной массой тела (41,2%). Это связано с тем, что у большинства из пациенток с нормальной массой тела (105/177 (59,3%)) выявлен избыток жировой ткани (ОЖТ  $\geq 30$ %), в 28,2% случаев представленный чрезмерным количеством ВЖТ. В связи с этим был проведен анализ количества жировой ткани и метаболического профиля пациенток с нормальным ИМТ, имеющих избыток жировой ткани и нормальное ее количество (таблица 11).

**Значение основных показателей композиционного состава тела и частота метаболических нарушений у пациенток в зависимости от ИМТ и количества жировой ткани**

Группы Показатели	ИМТ<25, нормальное количество жировой ткани (n=72)	ИМТ<25, избыток жировой ткани (n=105)	Избыточная масса тела (n=50)	P1-2	P1-3	P2-3
ИМТ, кг/м <sup>2</sup>	19,9±2,3	22,6±1,7	26,7±5,3	<0,0001	<0,0001	<0,0001
Общий процент жировой ткани, %	28,6±3,4	35,3±2,6	41,2 ± 3,1	<0,0001	<0,0001	<0,0001
Общая масса жировой ткани, г	14202,6±2261,0	20225,3±3639,3	25073,1±102 00,9	<0,0001	<0,0001	<0,0001
Масса жировой ткани в области туловища, г	5802,0±1069,8	9433,4±2249,3	12296,9±586 6,9	<0,0001	<0,0001	<0,0001
Масса висцеральной жировой ткани, г	80,4±64,9	245,1±196,1	470,8±449,0	<0,0001	<0,0001	<0,0001
Глюкоза натощак, ммоль/л	5,0±0,5	5,1±0,5	5,1±0,4	0,0858	0,4662	0,3566
Глюкоза через 2 часа после нагрузки, ммоль/л	4,9±1,1	6,0±1,4	6,2±1,34	0,0036	0,0724	0,4113

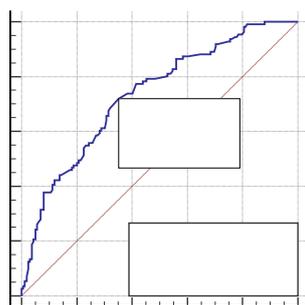
Инсулин натощак, мкМЕ/мл	7,8±3,4	9,8±4,1	11,2±4,2	0,0002	0,0001	0,2986
Инсулин через 2 часа после нагрузки, мкМЕ/мл	40,5±30,0	64,7±41,0	71,5±47,2	0,0014	0,0001	0,3360
НОМА-ИР	1,72±0,84	2,35±1,67	3,73±1,97	0,0027	<0,0001	0,0027
НТГ, %	3 (4,2%)	17 (16,2%)	9 (18,0%)	0,014	0,012	0,551
ГИ, %	14 (19,4%)	39 (37,1%)	25 (50,0%)	0,012	<0,0001	0,129
ИР, %	6 (8,3%)	30 (28,6%)	23 (46,0%)	0,002	<0,0001	0,033
ДЛП, %	9 (12,5%)	30 (28,6%)	17 (34,0%)	0,012	0,005	0,417

*Примечание: критический уровень значимости с поправкой Бонферрони:  $0,05/3=0,017$*

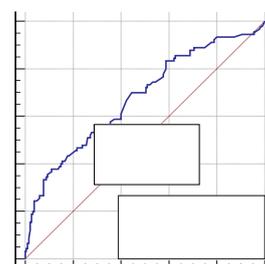
Средний процент ОЖТ и ИМТ оказались выше у пациенток с нормальным ИМТ и избытком жировой ткани, чем при нормальном ее количестве ( $p<0,001$ ). Масса ВЖТ при нормальном ИМТ и избытке жировой ткани была в 3 раза больше, а масса жировой ткани области туловища – в 2 раза больше, чем в подгруппе с нормальным количеством жировой ткани. Как отмечено в таблице 11, несмотря на отсутствие различий между подгруппами по среднему уровню глюкозы натощак, инсулин оказался достоверно выше при нормальном ИМТ и избытке жировой ткани. Частота метаболических нарушений также была в несколько раз выше в группе избытка жировой ткани при нормальном ИМТ, чем при его отсутствии. Показатели композиционного состава тела пациенток с избытком жировой ткани при нормальном ИМТ были ниже, чем при избыточной массе тела, однако по частоте метаболических нарушений существенных различий между группами не выявлено. В каждом 3-ем случае диагностировалась ГИ и ИР, в каждом 6-ом – НТГ. Различий по уровню андрогенов в подгруппах обнаружено не было, однако при нормальной массе тела и нормальном количестве жировой ткани уровень ПССГ был значимо выше ( $61,4\pm 26,6$ ), чем при ее избытке ( $51,8\pm 20,1$ ,  $p=0,01$ ).

Учитывая ограниченную доступность метода денситометрии с программой оценки композиционного состава тела и ВЖТ для широкого использования в

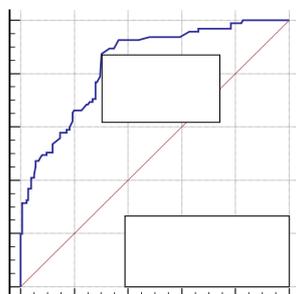
клинической практике, было принято решение вычислить пороговый уровень ИМТ, которое может использоваться для прогнозирования метаболических нарушений и избытка жировой ткани. Проведен ROC-анализ для предикции НТГ, ИР, ГИ и ДЛП, который показал наибольшую прогностическую значимость ИМТ для выявления ИР ( $AUC=0,837 (0,025)$ ). Пороговое значение ИМТ при проведении ROC-анализа составило  $23 \text{ кг/м}^2$  с чувствительностью  $87,4\%$  ( $95\% \text{ ДИ}=79,0;93,3$ ) и специфичностью  $69,7\%$  ( $95\% \text{ ДИ}=62,3;76,4$ ) (рисунок 10 а-г).



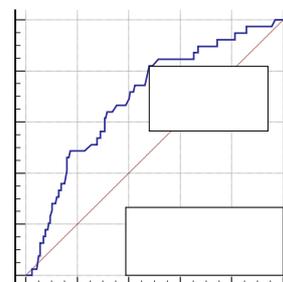
а. гиперинсулинемия



б. дислипидемия



в. инсулинорезистентность

г. нарушение  
толерантности к глюкозе

### Рисунок 10 а-г. Оценка значимости ИМТ для диагностики ГИ, ДЛП, ИР и НТГ, ROC-анализ

В дальнейшем, на основании значений ИМТ, проведено деление пациенток на 2 подгруппы: 1-я – с ИМТ менее  $23 \text{ кг/м}^2$ , 2-я – с ИМТ от  $23$  до  $24,9 \text{ кг/м}^2$ . Метаболический профиль пациенток подгруппы 1 статистически значимо отличался подгруппы 2 по таким частоте НТГ, ГИ и ИР, что говорит о значимости порогового значения ИМТ  $23 \text{ кг/м}^2$  в предикции метаболических нарушений (таблица 12).

**Значения основных показателей композиционного состава тела и  
метаболический профиль пациенток с нормальной массой тела в  
зависимости от значений ИМТ**

Подгруппы	ИМТ 18,5-22,9 (N=127)	ИМТ 23-24,9 (N=50)	р-значение
Показатели			
ИМТ, кг/м <sup>2</sup>	20,58±1,43	23,59±0,53	<0,001
Избыток жировой ткани, %	56/127 (44,1%)	50/50 (100,0%)	<0,001
Висцеральное ожирение, %	17/127 (13,4%)	33/50 (66,0%)	<0,001
Общий процент жировой ткани, %	29,89±3,95	34,67±3,11	<0,001
Масса висцеральной жировой ткани, г	119,41±118,95	327,54±217,21	<0,001
Глюкоза натощак, ммоль/л	5,01±0,47	5,14±0,45	0,137
Глюкоза через 2 часа после нагрузки, ммоль/л	5,5±1,11	6,44±1,77	0,0015
Инсулин натощак, мкМЕ/мл	7,95±2,93	12,11±5,5	<0,0001
Инсулин через 2 часа после нагрузки, мкМЕ/мл	53,39±39,21	82,2±55,61	0,0001
Индекс НОМА, ср	1,76±0,74	2,95±2,2	0,0033
НТГ, %	8/127 (6,3%)	11/50 (22,0%)	<0,0001
ГИ, %	29/127 (22,8%)	25/50 (50,0%)	0,0004
ИР, %	10/127 (7,9%)	26/50 (52,0%)	<0,0001
ДЛП, %	27/127 (21,3%)	17/50 (34,0%)	0,0783

У всех пациенток с ИМТ более 23 кг/м<sup>2</sup> был диагностирован избыток жировой ткани, в подгруппе с ИМТ<23 кг/м<sup>2</sup> – только у 44,1%. Избыток ВЖТ был диагностирован у 13,4% пациенток 1-й подгруппы и у 66,0% 2-й. При ИМТ<23 кг/м<sup>2</sup> НТГ отмечалось только в 6,3% случаев, при его значении ≥23 кг/м<sup>2</sup> – в 3 раза чаще (22,0%). ГИ – в 2 раза, ИР – в 6 раз реже наблюдалась в 1-й подгруппе, чем во 2-й, что свидетельствует о значимости нового порогового значения ИМТ.

**Таким образом,** более половины пациенток с СПКЯ при ИМТ<25 кг/м<sup>2</sup> имеют избыток жировой ткани, локализованной преимущественно в висцеральной

области, который в каждом 3-ем случае ассоциирован с ИР, ГИ, ДЛП и примерно в каждом 6-ом – с НТГ. ИМТ более 23 кг/м<sup>2</sup> может служить маркером избытка жировой ткани и высокого риска развития метаболических нарушений.

#### 4.1.4 Хроническое субклиническое воспаление при СПКЯ

Учитывая наличие у большинства пациенток избытка жировой ткани, проведена оценка уровней провоспалительных маркеров и адипоцитокинов в сыворотке крови пациенток с СПКЯ и их связи с композиционным составом тела и метаболическими параметрами.

Анализ IL-1, IL-6, TNF- $\alpha$ , СРБ, лептина и адипонектина был проведен у 148 женщин – 118 пациенток с СПКЯ и у 30 женщин группы сравнения. Последняя была дополнительно поделена на подгруппы: 14 женщин с избыточной массой тела и ожирением (подгруппа сравнения, ИМТ $\geq$ 25 кг/м<sup>2</sup>), 16 женщин с нормальным ИМТ (подгруппа сравнения, ИМТ<25 кг/м<sup>2</sup>). Группа пациенток с СПКЯ была разделена на подгруппы по ИМТ, 1-я: 80 пациенток с ИМТ<25 кг/м<sup>2</sup>, 2-я: 38 пациенток с ИМТ $\geq$ 25 кг/м<sup>2</sup>.

У пациенток с СПКЯ средние уровни IL-6, TNF- $\alpha$  и СРБ в сыворотке крови пациенток были выше, чем в подгруппе сравнения с ИМТ<25 кг/м<sup>2</sup>,  $p<0,05$  (таблица 14). Повышение уровней СРБ и IL-6 отмечено у 39,8% и 37,2% пациенток с СПКЯ и ни в одном случае в группе сравнения с ИМТ<25 кг/м<sup>2</sup>. Повышения уровней TNF- $\alpha$  не обнаружено ни у одной пациентки.

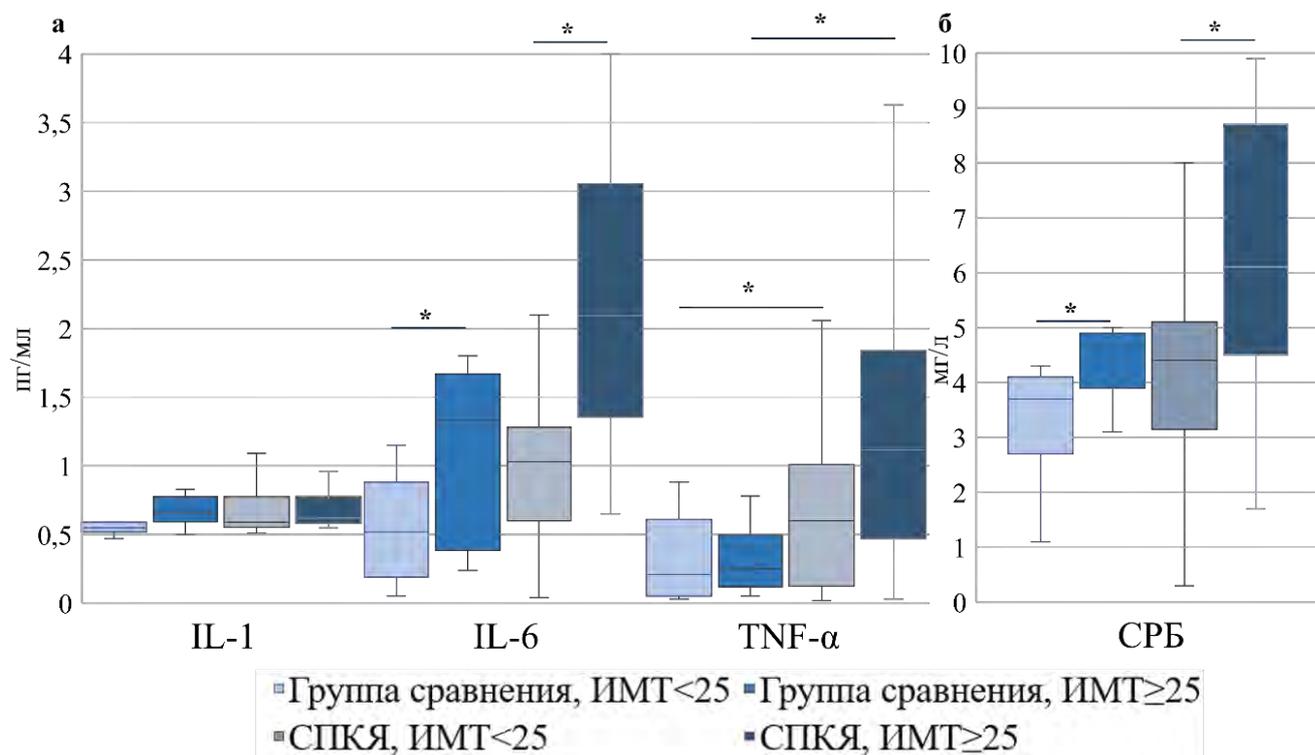
Различий по уровням IL-1, лептина и адипонектина между этими группами не установлено. Помимо адипонектина, ни один из проанализированных показателей в группе сравнения с ИМТ $\geq$ 25 кг/м<sup>2</sup> существенно не отличался от группы с СПКЯ. Тем не менее уровни СРБ и IL-6 при СПКЯ были выше, чем у подгруппы сравнения с ИМТ<25 кг/м<sup>2</sup> ( $p=0,002$  и  $p=0,03$  соответственно). Повышение уровней СРБ в группе сравнения с ИМТ $\geq$ 25 кг/м<sup>2</sup> не было, уровень IL-6 был выше нормы в 21% случаев, то есть почти в 2 раза реже, чем при СПКЯ (таблица 13).

**Уровни маркеров ХСВ и адипоцитокинов у женщин, включенных в исследование**

Показатель	Значение показателя в группах		
	СПКЯ	подгруппа сравнения, ИМТ $\geq$ 25 кг/м <sup>2</sup>	подгруппа сравнения, ИМТ<25 кг/м <sup>2</sup>
IL-1, пг/мл	0,6 (0,6;0,8)	0,6(0,6;0,7)	0,6 (0,5;0,6) <sup>1</sup>
IL-6, пг/мл	1,2 (0,8;2,0)	1,3(0,5;1,5)	0,5 (0,2;0,8)* <sup>1</sup>
TNF- $\alpha$ , пг/мл	0,7 (0,2;1,2)	0,3(0,2;0,4)	0,2 (0,1;0,6)* <sup>1</sup>
СРБ, мг/л	4,8 (3,2;5,8)	4,6(4,0;4,9)	3,7 (3,1;4,1)* <sup>1</sup>
Лептин, нг/мл	18,1 (10,3;24,5)	8,7 (6,1;19,4)	12,8 (7,6;18,6) <sup>1</sup>
Адипонектин, нг/мл	12,0 (8,6;15,8)	45,5 (15,3;72,0)*	12,9 (10,7;13,9) <sup>1</sup>
Повышение СРБ, абс, %	44/118 (37,2%)	0*	0* <sup>2</sup>
Повышение IL-6, абс, %	47/118 (39,8%)	3/14 (21,4%)	0* <sup>2</sup>

*\*p<0,025 по сравнению с группой пациенток с СПКЯ, <sup>1</sup>тест Манна-Уитни, <sup>2</sup>Chi-квадрат*

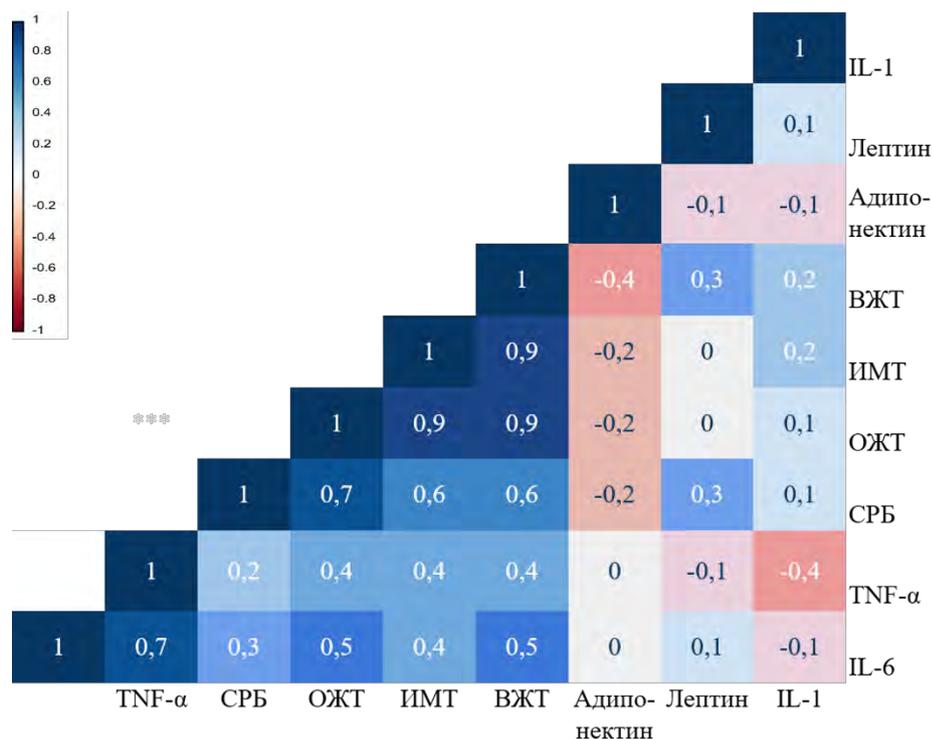
Анализ уровней маркеров ХСВ с учетом ИМТ, представленный на рисунке 10, свидетельствует об отсутствии различий по средним показателям IL-6, TNF- $\alpha$  и СРБ между группой сравнения с ИМТ $\geq$ 25 кг/м<sup>2</sup> и 1-й подгруппой (СПКЯ, ИМТ<25 кг/м<sup>2</sup>). Во 2-й подгруппе (СПКЯ при ИМТ $\geq$ 25 кг/м<sup>2</sup>) значения этих параметров были статистически значимо выше, чем во всех остальных (рис. 11 а,б).



**Рисунок 11.** Уровни IL-1, IL-6, TNF- $\alpha$  (а) и СРБ (б) в подгруппах 1, 2 и подгруппах сравнения с ИМТ $\geq$ 25 кг/м<sup>2</sup> и ИМТ<25 кг/м<sup>2</sup>

Примечание: Me (Q1; Q3), тест Манна-Уитни

Частота повышения уровня СРБ в подгруппе 2 составила 22/38 (60,5%), что в 2 раза выше, чем в подгруппе 1 – 20/80 (25%), ( $p < 0,001$ ). Повышение уровня IL-6 встречалось в подгруппе 2 в 27/38 (71,1%) случаев, что более чем в 3 раза чаще ( $p = 0,002$ ), чем в 1-й подгруппе и группе сравнения с ИМТ $\geq$ 25 кг/м<sup>2</sup>, где его частота составила 14/80 (17,5%) и 3/14 (21,0%) соответственно ( $p > 0,05$ ). Данные корреляционного анализа, представленные на рисунке 12, свидетельствуют о наличии прямой взаимосвязи уровней IL-6 и СРБ с показателями композиционного состава тела. Наиболее сильная корреляция этих показателей была обнаружена с ОЖТ ( $r = 0,5$ ,  $p < 0,001$ ,  $r = 0,7$ ,  $p < 0,001$ ), а также с массой ВЖТ ( $r = 0,5$ ,  $p < 0,001$ ,  $r = 0,6$ ,  $p < 0,001$ ). Корреляция СРБ с лептином и адипонектином была более слабой (0,3 и -0,2 соответственно,  $p < 0,05$ ). Корреляции уровней цитокинов с андрогенным профилем не обнаружено.



**Рисунок 12. Корреляция маркеров ХСВ и показателей композиционного состава тела**

Учитывая корреляцию между провоспалительными маркерами и жировой тканью, а также наличие у 65,0% пациенток с СПКЯ при ИМТ<25 кг/м<sup>2</sup> избытка жировой ткани, проведено сравнение показателей композиционного состава тела и цитокинов пациенток с нормальным ИМТ при наличии и отсутствии избытка жировой ткани (таблица 14).

Таблица 14

**Основные показатели композиционного состава тела, метаболического профиля и маркеров ХСВ у пациенток с нормальным ИМТ при наличии и отсутствии избытка жировой ткани**

Показатели	Значение показателя в группах		
	ИМТ<25, нормальное количество жировой ткани (n=28)	ИМТ<25, избыток жировой ткани (n=52)	р-значение
ИМТ, кг/м <sup>2</sup>	19,0±1,7	21,8±1,7	<0,001 <sup>1</sup>

Общий процент жировой ткани, %	27,1±2,2	34,4±3,2	<0,001 <sup>1</sup>
Общая масса жировой ткани, г	14869,0 (12087,0;15488,0)	19757,5 (17709,3;2281463)	0,266 <sup>2</sup>
Масса жировой ткани в области туловища, г	5958,5 (5140,0;6555,5)	9090,0 (7738,0;22814,3)	0,191 <sup>2</sup>
Масса висцеральной жировой ткани, г	91,7 (23,3;124,8)	238,4 (83,0;364,0)	0,013 <sup>2</sup>
Висцеральное ожирение, абс %	4/28 (14,3%)	19/52 (36,5%)	0,036 <sup>3</sup>
IL-1, пг/мл	0,6 (0,5;0,7)	0,6 (0,6;0,8)	0,072 <sup>2</sup>
IL-6, пг/мл	1,1 (0,6;1,3)	1,0 (0,6;1,3)	0,641 <sup>2</sup>
TNF-α, пг/мл	0,5 (0,1;1,0)	0,7 (0,3;1,0)	0,409 <sup>2</sup>
СРБ, мг/л	3,7±1,2	4,1±1,6	0,230 <sup>1</sup>
Повышение СРБ, абс %	1/28 (3,5%)	13/52 (25,0%)	0,017 <sup>3</sup>
Индекс НОМА	1,9 (0,8)	2,4 (1,1)	0,313 <sup>1</sup>
НТГ*, абс %	1/28 (3,5%)	8/52 (15,4%)	0,111 <sup>3</sup>
ГИ, абс %	7/28 (25,0%)	20/52 (38,5%)	0,225 <sup>3</sup>
ИР, абс %	2/28 (7,1%)	14/52 (26,9%)	0,035 <sup>3</sup>
ДЛП, абс %	3/28 (10,7 %)	15/52 (28,8%)	0,064 <sup>3</sup>

Примечание: <sup>1</sup> t-критерий Стьюдента, <sup>2</sup> тест Манна-Уитни, <sup>3</sup> Хи-квадрат.

Не обнаружено статистически значимых различий по средним значениям провоспалительных цитокинов. Однако в группе пациенток с нормальным ИМТ и избытком жировой ткани в 7 раз чаще выявлялось повышение уровня СРБ (25,0%) и почти в 4 раза – индекса ИР (26,9%), чем у пациенток с нормальным процентом ОЖТ (3,5% и 7,1% соответственно,  $p=0,017$ ).

**Таким образом,** у каждой 3-й пациентки с СПКЯ присутствуют лабораторные признаки ХСВ в виде повышения уровней СРБ и/или IL-6. Избыток жировой ткани ассоциирован с более высокими уровнями провоспалительных маркеров не только у пациенток с ожирением, но и с нормальным ИМТ при избытке жировой ткани, при котором в каждом 4-м случае выявлено повышение уровня СРБ.

#### 4.1.5 Кишечная микробиота при СПКЯ

Оценка состава КМ проведена у 170 женщин – 140 с СПКЯ, 30 – группы сравнения. На первом этапе проведено исследование КМ методом культуромики. Анализ таксономического состава КМ больных и здоровых женщин представлен на рисунках 13 и 14. Суммарно выделены микроорганизмы 51 семейства, 80 родов и 320 видов. В обеих группах преобладали 4-х типов: *Bacillota* (*Firmicutes*), *Bacteroidota* (*Bacteroidetes*, *Pseudomonadota* (*Proteobacteria*), *Actinomycetota* (*Actinobacteria*).

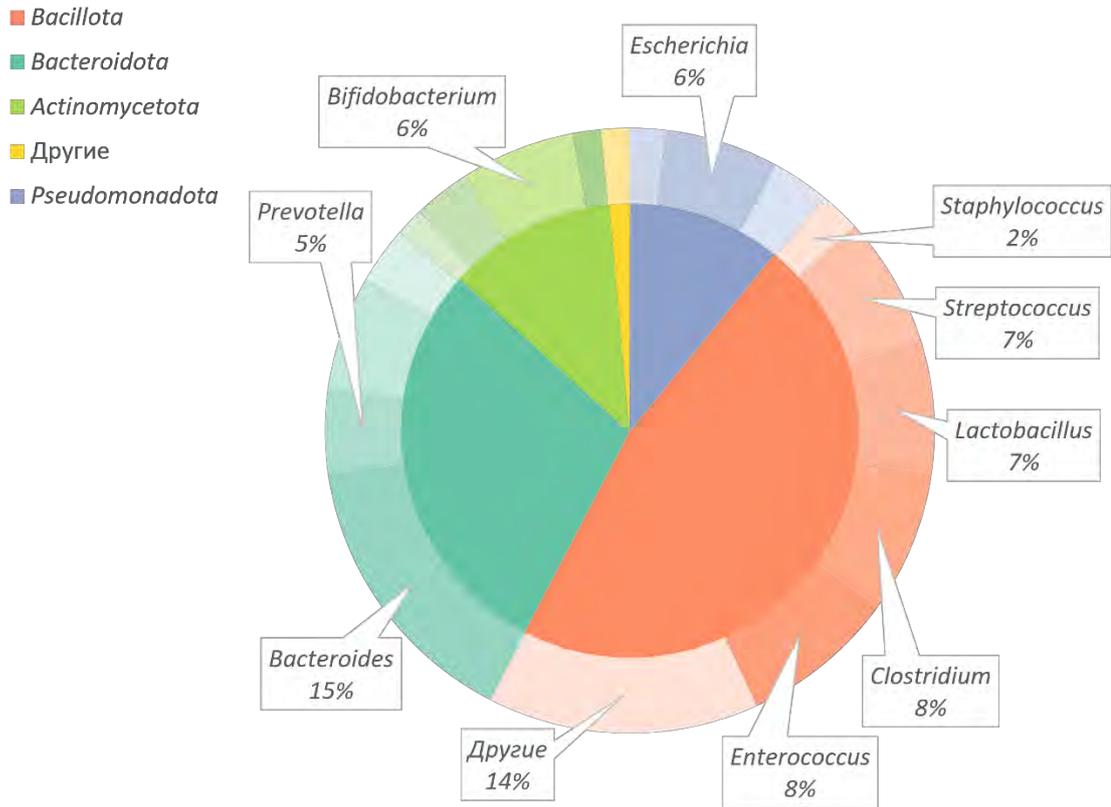
В кишечном содержимом пациенток с СПКЯ тип *Bacillota* был представлен микроорганизмами 23-х родов, из них доминировали *Enterococcus* spp., *Staphylococcus* spp., *Lactobacillus* spp., *Clostridium* spp. и *Veillonella* spp.

В составе типа *Actinomycetota* были микроорганизмы 15-ти родов, с доминированием по частоте выделения *Bifidobacterium* и *Corynebacterium*.

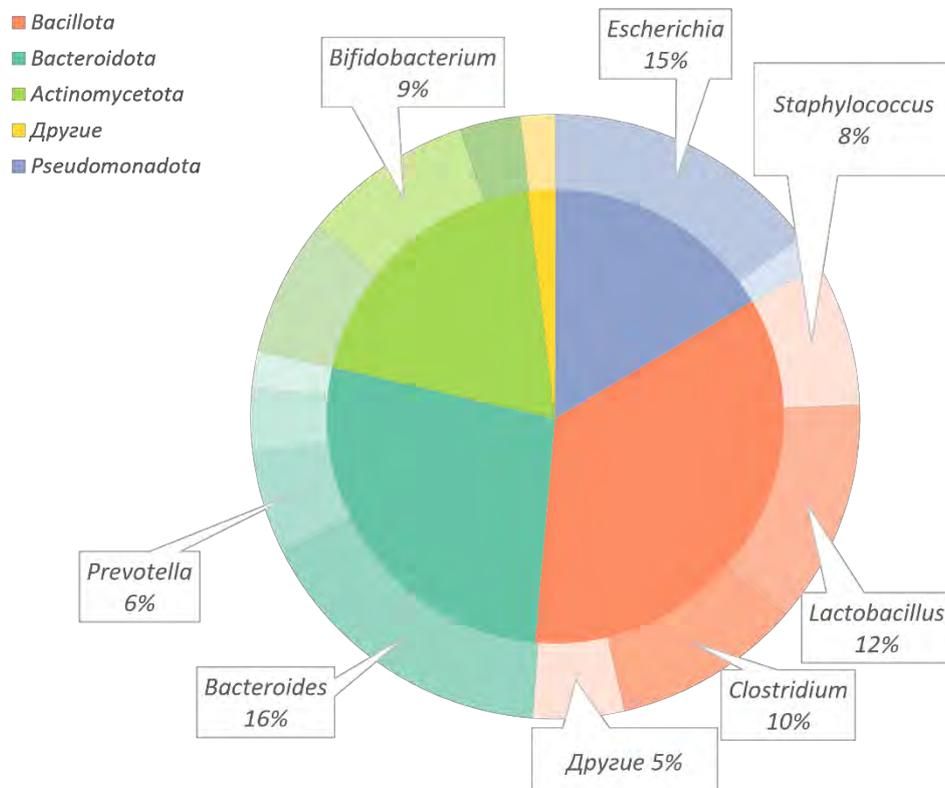
Тип *Pseudomonadota* включал 22 рода, среди которых чаще обнаруживали бактерии родов *Escherichia*, *Klebsiella* и *Citrobacter*.

Среди *Bacteroidota* встречались микроорганизмы 6-ти родов, с преобладанием по частоте выделения 3-х: *Bacteroides*, *Parabacteroides* и *Prevotella*. Реже встречались микроорганизмы двух типов, принадлежащие к царству *Fungi*: *Ascomycota* (11 родов), в том числе грибы рода *Candida* и *Basidiomycota* (3 рода).

У здоровых женщин среди *Bacillota* встречались микроорганизмы 11-ти родов, наиболее часто – *Enterococcus*, *Lactobacillus* и *Clostridium*. Среди *Actinomycetota* – 6-ти родов, с доминированием по частоте выделения *Bifidobacterium* и *Corynebacterium*. Тип *Pseudomonadota* включал 7 родов, среди которых чаще обнаруживали *Escherichia* и *Klebsiella*. Тип *Bacteroidota* – 5 родов, с преобладанием *Bacteroides* spp. и *Prevotella* spp.

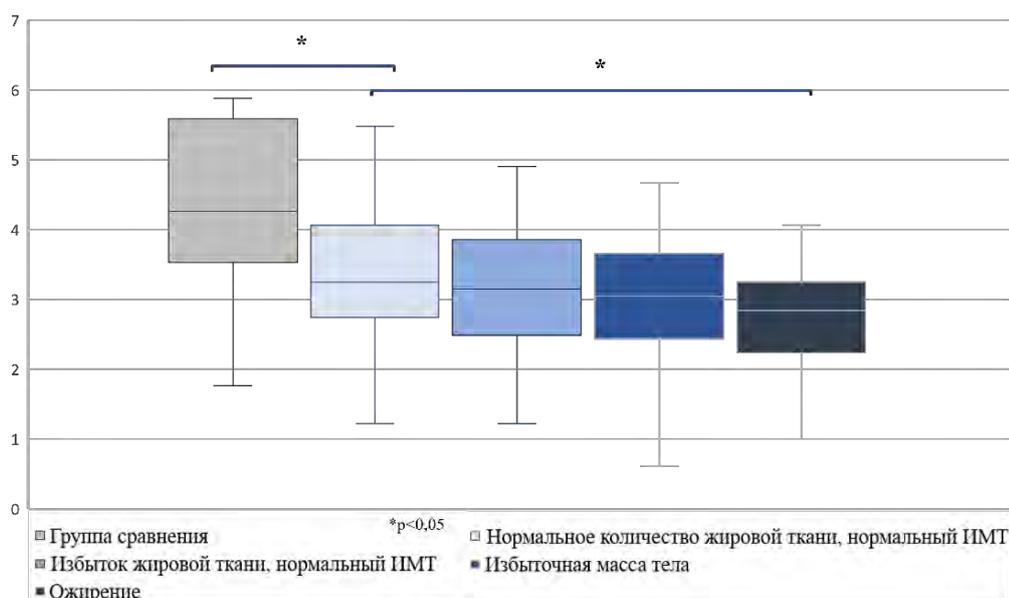


**Рисунок 13. Состав микробиоты кишечника у женщин с СПКЯ**



**Рисунок 14. Состав микробиоты кишечника у здоровых женщин**

Анализ видового богатства в группах СПКЯ и сравнения был проведен с помощью индекса Маргалефа. Выявлено более высокое видовое богатство в группе сравнения (4,3 (3,5;5,6)) по отношению к СПКЯ (3,0 (2,4;3,9)) (рис. 15). Несмотря на отсутствие значимых различий по данному параметру в группе СПКЯ с нормальным ИМТ при наличии и отсутствии избытка жировой ткани, этот показатель снижался по мере увеличения ИМТ и достиг статистически значимой разницы при ожирении по сравнению с нормальным ИМТ (рис. 15).



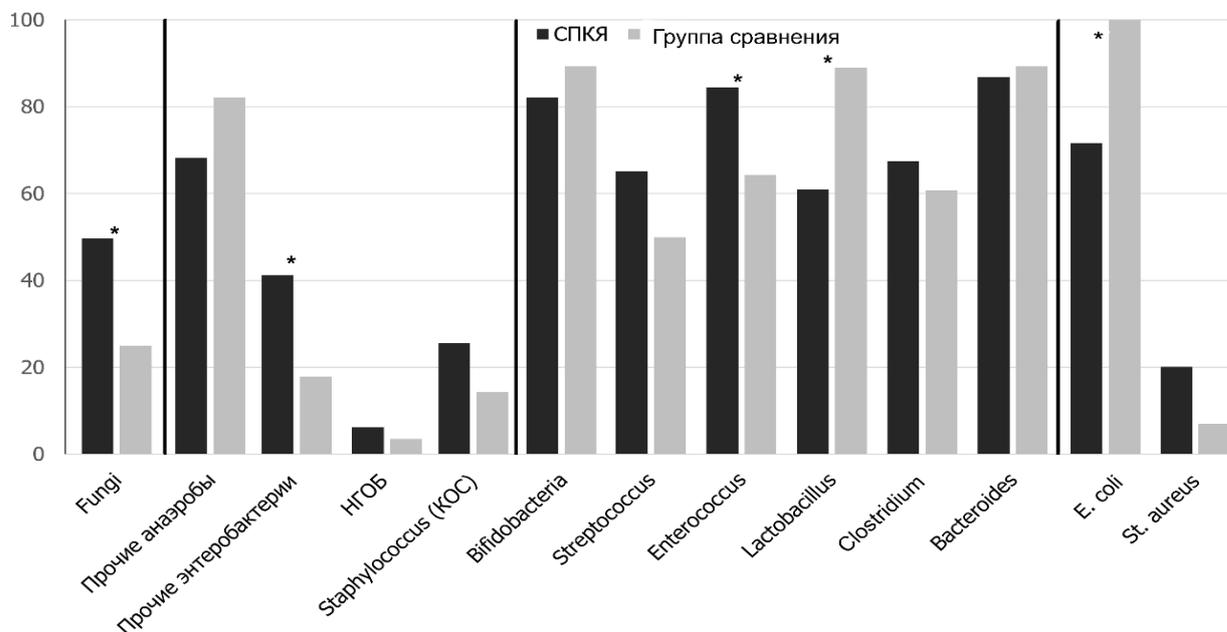
**Рисунок 15. Видовое богатство КМ у пациенток с СПКЯ и в группе сравнения (индекс Маргалефа)**

Примечание: \*  $p$  value < 0.001, тест Манна-Уитни

Наиболее представленные группы микроорганизмов в составе КМ у пациенток с СПКЯ и в группе сравнения отражены на рисунке 16.

В отличие от группы сравнения, при СПКЯ частота встречаемости энтеробактерий, помимо *Escherichia coli* (*E. coli*) (*Gamma*proteobacteria), а также стрептококков, энтерококков, стафилококков (*Staphylococcus aureus* и коагулазоотрицательных), клостридий (тип *Bacillota*) и микроскопических грибов, выше. Напротив, у здоровых женщин наблюдалась большая частота выделения бифидобактерий (тип *Actinomycetota*), лактобацилл (тип *Bacillota*), кишечной палочки (тип *Pseudomonadota*), бактероидов (тип *Bacteroidota*) и прочих

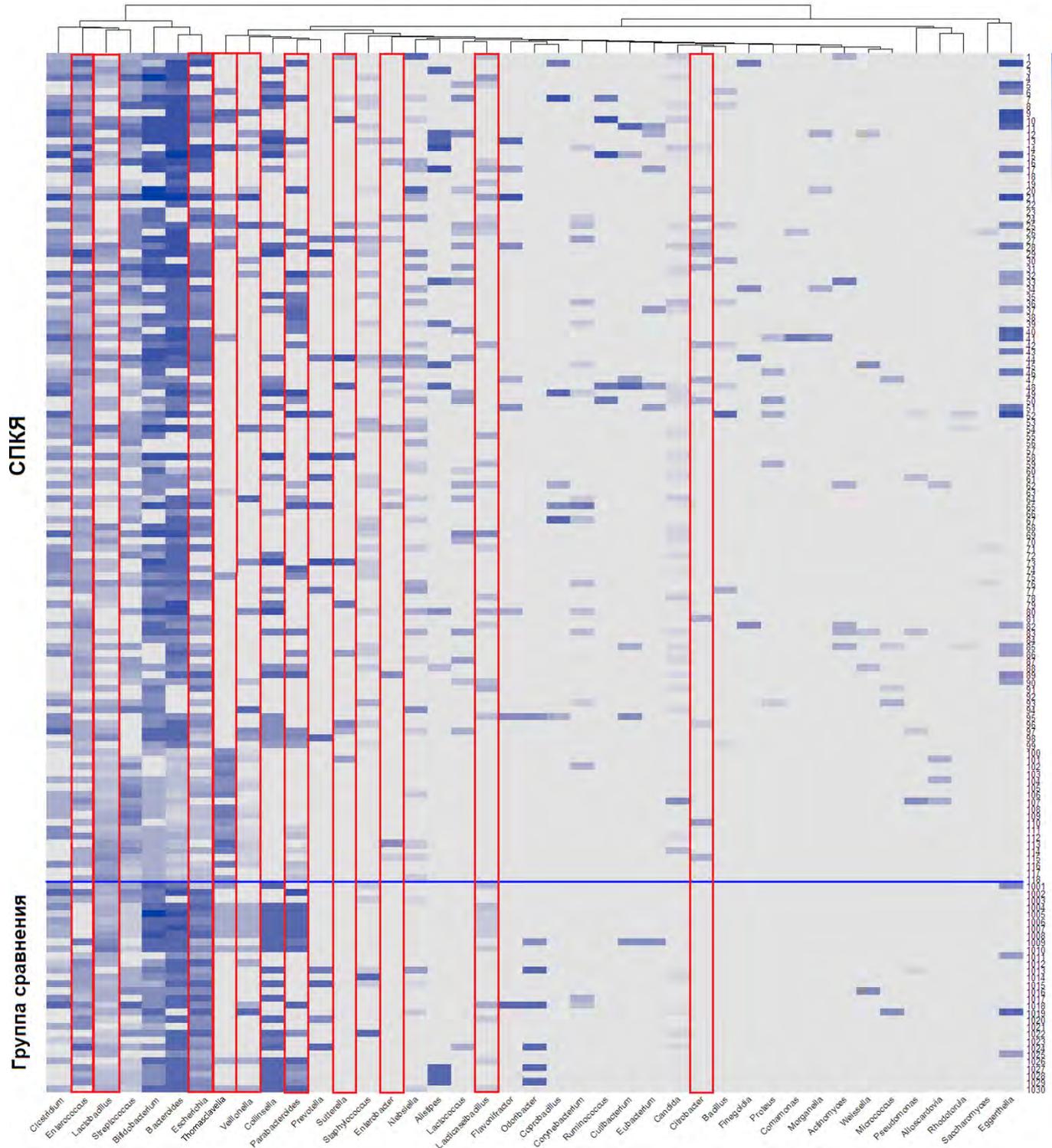
облигатных анаэробов. Прочие энтеробактерии (*Citrobacter*, *Enterobacter*, *Klebsiella*) ( $p=0,012$ ), *Enterococcus* ( $p=0,02$ ) и грибы ( $p=0,02$ ) в 1,5-2 раза чаще встречались при СПКЯ, вид *E. coli* ( $p=0,002$ ) и род *Lactobacillus* ( $p=0,005$ ) – в 1,5 раза чаще в группе сравнения.



**Рисунок 16. Частота встречаемости основных групп микроорганизмов у пациенток с СПКЯ и в группе сравнения**

**Примечание:** \* $p < 0,05$ , Хи-квадрат, НГОБ - неферментирующие грамотрицательные бактерии; KOC - коагулазоотрицательные стафилококки.

Качественный и количественный анализ состава КМ обобщены на тепловой карте (рис.17).



**Рисунок 17. Тепловая карта состава КМ пациенток с СПКЯ и здоровых женщин**

*Примечание:* на рисунке представлено графическое изображение количественного и качественного состава КМ пациенток с СПКЯ и здоровых женщин. Каждая тонкая горизонтальная линия представляет собой состав КМ у одной женщины (титр микроорганизмов в lg КОЕ/г обозначен цветом).

В составе КМ у пациенток с СПКЯ, в отличие от группы сравнения, выявлено повышение частоты встречаемости УПМ, относящихся к порядку *Burkholderiales* ( $p=0,033$ ) (преимущественно *Sutterella* и *Comamonas*), энтеробактерий (за исключением *E. coli*), таких как *Citrobacter*, *Enterobacter*, *Klebsiella* ( $p=0,012$ ), и рода *Enterococcus* ( $p=0,02$ ). Более низкая частота встречаемости отмечена у представителей родов *Parabacteroides* ( $p=0,01$ ), *Veillonella* ( $p=0,01$ ), *Escherichia* ( $p=0,002$ ) и *Lactobacillus* ( $p=0,005$ ) при СПКЯ в отличие от группы сравнения.

При СПКЯ обнаружено повышение численности представителей семейства *Enterobacteriaceae*, отличных от *E. coli*, (6 [6,0;6,8] и 4,5 [3,7;5,3],  $p=0,043$ ). Кроме того, в данной группе отмечена более высокая степень обсемененности ЖКТ микроорганизмами рода *Thomasclavelia* ( $p=0,004$ ). В группе сравнения выявлены более высокие титры бактерий из группы симбионтов - родов *Bacteroides*, *Lactobacillus* и *Escherichia* по сравнению с пациентками с СПКЯ (таблица 16).

Более детальный количественный анализ состава КМ показал различия в уровнях колонизации ЖКТ для некоторых видов функционально значимых микроорганизмов – продуцентов ферментов и КЖК (таблица 15). При СПКЯ это проявлялось в снижении колонизационных показателей бактерий, представляющих часть КМ, в том числе микроорганизмов, играющих важную роль в поддержании клеточного гомеостаза макроорганизма или в реализации механизмов воспаления.

Сравнение уровня колонизации ЖКТ облигатными анаэробами показало, что среди 15 видов семейства *Bacteroidaceae* в группе пациенток с СПКЯ отмечено снижение количественных показателей для таких видов, как *Bacteroides vulgatus* ( $p=0,029$ ), *Bacteroides eggerthii* ( $p=0,001$ ), *Bacteroides caccae* ( $p=0,006$ ).

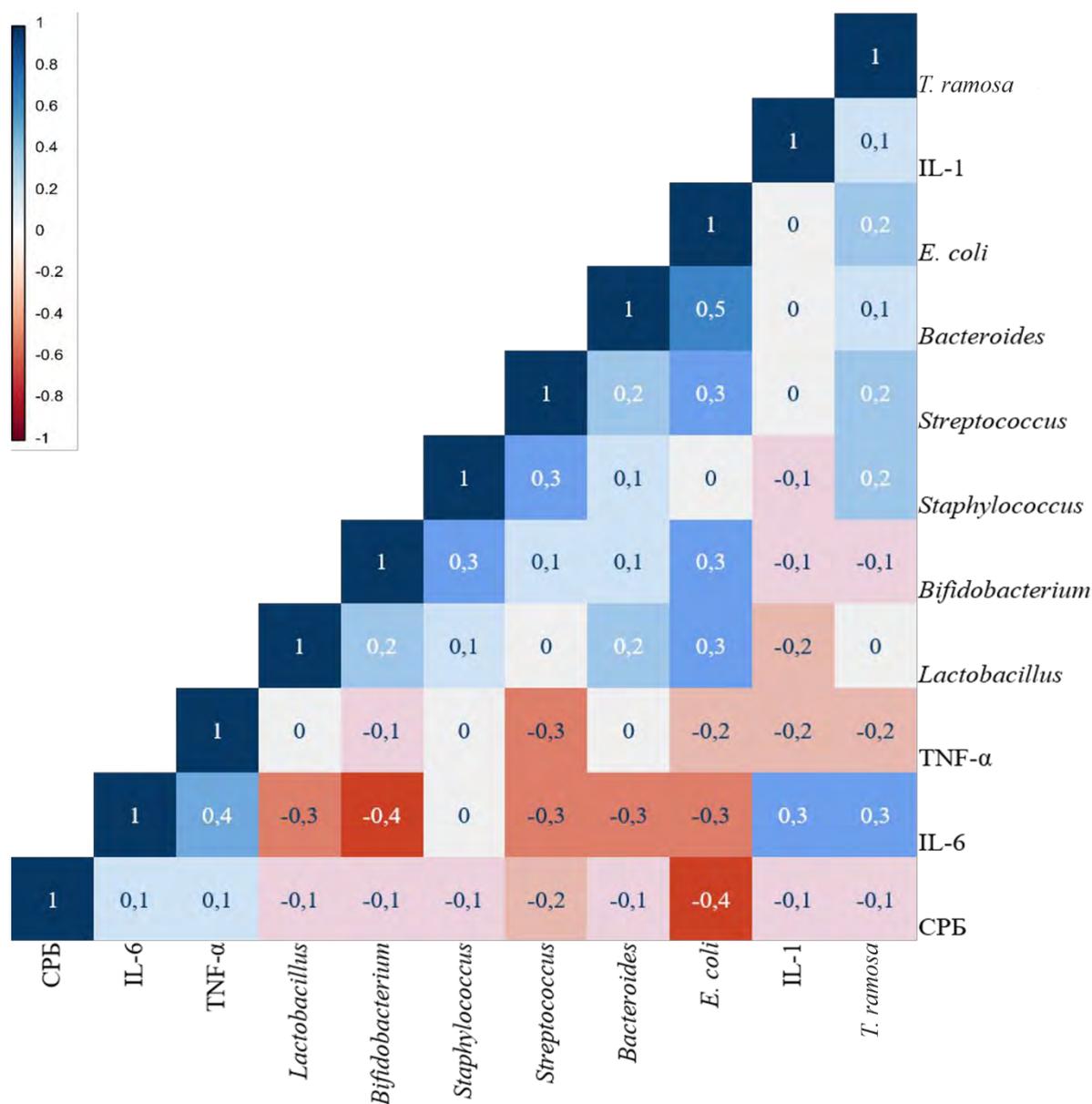
**Статистически значимые отличия количественных показателей бактерий у пациенток с СПКЯ и здоровых женщин.**

Микроорганизм	Количество бактерий		р-значение
	Пациенты с СПКЯ	Группа сравнения	
<i>Thomasclavelia ramosa</i>	8 [7,0;8,3]	6 [6,0;6,0]	0,004
<i>Staphylococcus aureus</i>	7 [6,0;8,0]	5 [4,5;6,0]	0,034
<i>Escherichia coli</i>	7 [7,0;9,0]	8 [7,3;9,8]	p<0,001
<i>Bacteroides caccae</i>	9 [8,0;10,0]	10 [9,3;10,0]	0,006
<i>Bacteroides eggerthii</i>	9 [9,0;10,5]	10 [10,0;10,0]	p<0,001
<i>Bacteroides vulgatus</i>	9 [8,0;10,5]	10 [8,5;11,0]	0,03
<i>Lactobacillus gasseri</i>	5 [5,0;6,0]	6 [5,5;6,0]	0,01
<i>Lacticaseibacillus rhamnosus</i>	4 [4,0;4,8]	5 [4,25;6,0]	0,043

Примечание: данные представлены в виде медианы (ИКР), lg КОЕ/г

Выявлено снижение количества *E. coli* (p<0,001) в отличие от группы сравнения. Помимо этого, на фоне общего снижения количества бактерий семейства *Lactobacillaceae* отмечалось значительное снижение титров двух видов - *L. gasseri* (p=0,01) и *L.rhamnosus* (p=0,043). Напротив, статистически значимо более высокая степень обсемененности ЖКТ отмечена для *Thomasclavelia ramosa* (*T. ramosa*) (p=0,004) и *Staphylococcus aureus* (p=0,034).

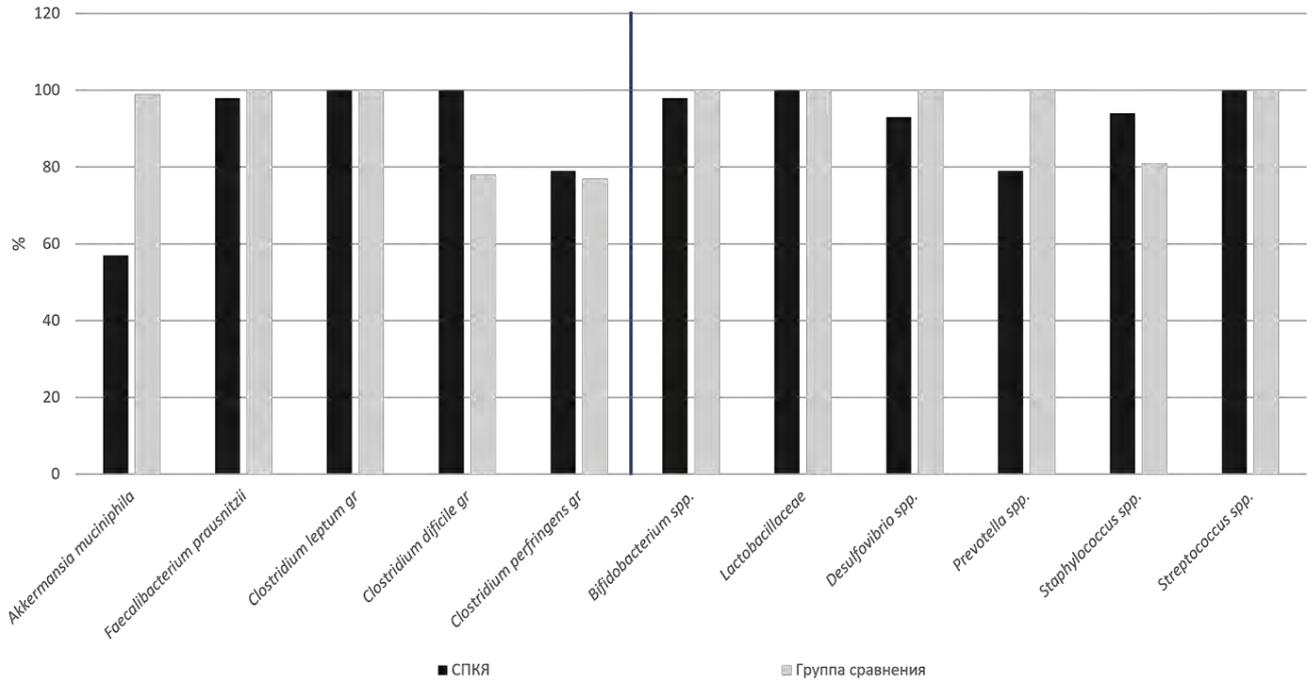
Выявлена отрицательная корреляция бактерий родов *Lactobacillus* (r=-0,3, p=0,026), *Bifidobacterium* (r=-0,4, p=0,001), *Bacteroides* (r=-0,3, p=0,006) с IL-6, вида *E. coli* с IL-6 (r=-0,3, p=0,013) и СРБ (r=-0,3, p=0,045). Положительная корреляция наблюдалась между уровнем IL-6 и титром бактерий вида *T. ramosa* (r=0,3, p=0,023) (рис. 18).



**Рисунок 18. Результаты корреляционного анализа количественного состава КМ и маркеров хронического воспаления. Указан коэффициент корреляции,  $*p < 0,05$**

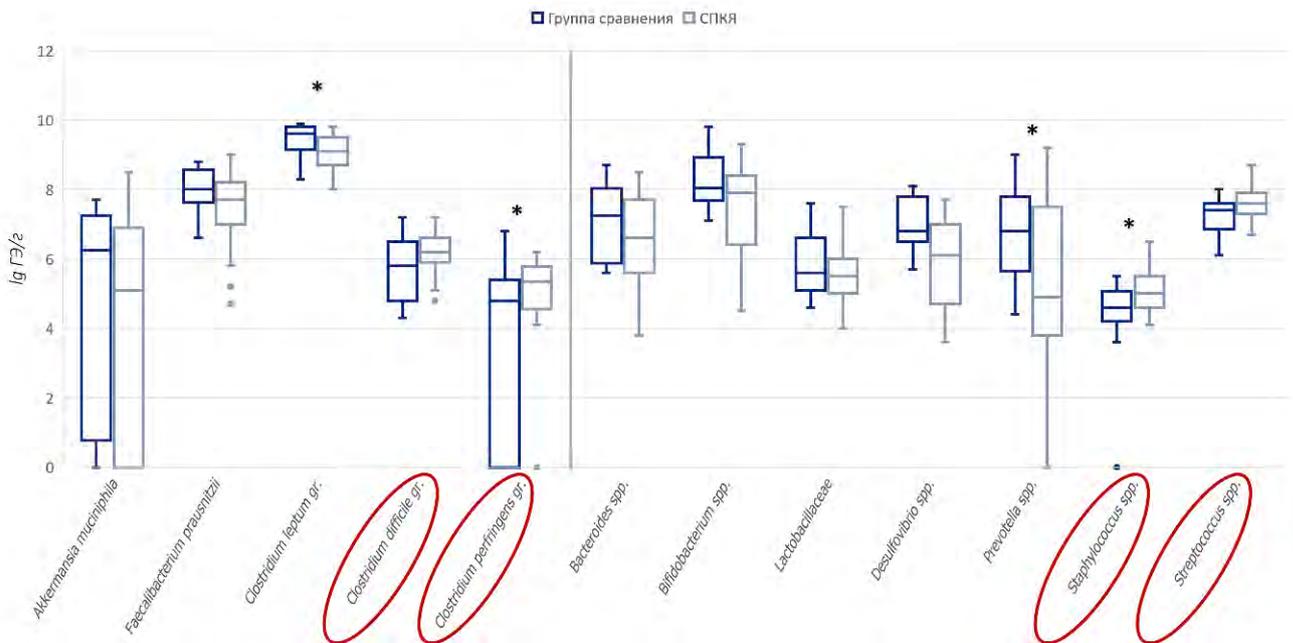
В дальнейшем с целью идентификации труднокультивируемых анаэробных бактерий был проведен анализ КМ методом ПЦР в реальном времени с определением наличия и количества геном-эквивалентов (ГЭ) 12 групп микроорганизмов, представленных на рисунке 19. Учитывая данные о метаболических и морфофункциональных характеристиках исследуемых бактерий, они были разделены на потенциально полезные – симбионты, и УПМ.

Качественный анализ не выявил различий по частоте встречаемости микроорганизмов в группах СПКЯ и сравнения (рисунок 19).



**Рисунок 19. Частота встречаемости основных групп микроорганизмов у пациенток с СПКЯ и в группе сравнения**

На рисунке 20 представлен сравнительный анализ количества исследуемых бактерий в группе СПКЯ и группе сравнения.

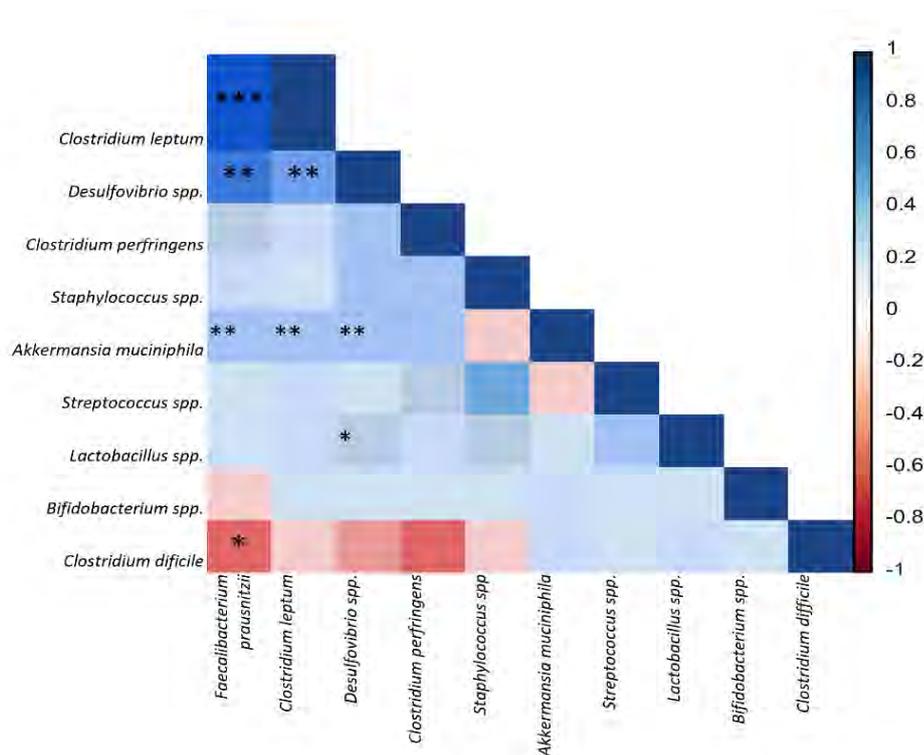


**Рисунок 20. Среднее количество микроорганизмов (ГЭ/г) в группе сравнения и СПКЯ**

*Примечание: отдельно обозначены условно-патогенные микроорганизмы*

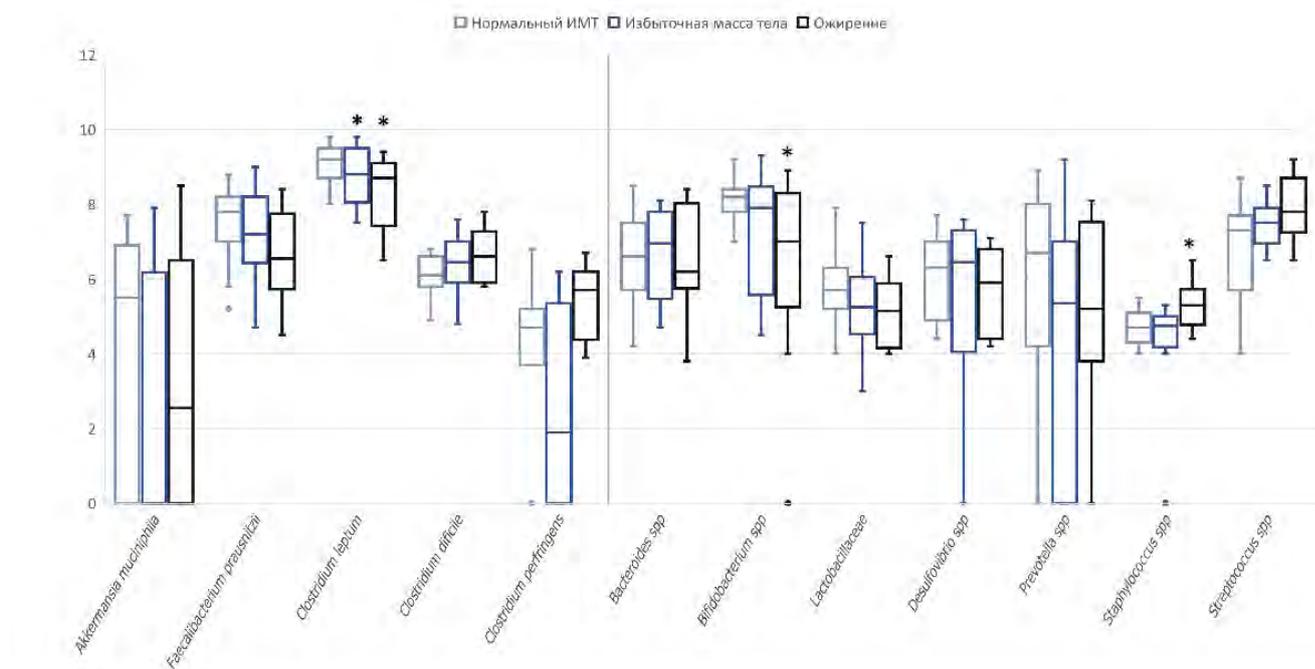
Как показано на графике, в группе пациенток с СПКЯ выявлено большее количество бактерий, относящихся к *Clostridium perfringens* gr. и *Staphylococcus* spp. (УПМ), тогда как в группе сравнения в более высоком титре присутствовали *Clostridium leptum* gr. и *Prevotella* spp. (участвуют в синтезе КЖК). Колонизационные показатели других симбионтов – *Akkermansia muciniphila*, *Faecalibacterium prausnitzii*, *Bifidobacterium* spp., *Lactobacillus* spp., *Desulfovibrio* spp., *Bacteroides* spp. – также имели тенденцию к снижению в группе СПКЯ в отличие от группы сравнения. Наряду с этим, при СПКЯ наблюдались более высокие титры УПМ: *Clostridioides difficile* (*C. difficile*) и *Streptococcus* spp., которые не достигли статистической значимости ( $p > 0,05$ ).

При проведении корреляционного анализа в группе СПКЯ выявлена статистически значимая прямая связь между показателем *C. perfringens* gr. и уровнем глюкозы в сыворотке крови натощак ( $r=0,3$ ,  $p=0,03$ ). Отрицательная корреляционная связь наблюдалась между количеством бактерий группы *C. leptum* и уровнем глюкозы натощак ( $r=-0,4$ ,  $p=0,01$ ), а также массой ВЖТ ( $r=-0,4$ ,  $p=0,04$ ). Аналогичным образом, наиболее многочисленный вид из группы *C. leptum* – *F. prausnitzii* – отрицательно коррелировал с уровнем глюкозы натощак ( $r=-0,3$ ,  $p=0,04$ ). Помимо этого, обнаружены корреляции между микроорганизмами, в частности *Desulfovibrio* spp. с видом *F. prausnitzii* ( $r=0,648$ ,  $p < 0,0001$ ) и группой *C. leptum* ( $r=0,551$ ,  $p < 0,0001$ ), что может указывать на синтрофизм этих бактерий (рис. 21).



**Рисунок 21. Коррелограмма групп бактерий у пациенток с СПКЯ**

При разделении пациенток на группы в зависимости от ИМТ (нормальная масса тела, избыточная масса тела и ожирение) отмечено усугубление дисбаланса КМ в группе с ожирением по сравнению с нормальной массой тела (рис. 22). При избыточной массе тела по сравнению с нормальным ИМТ отмечалась тенденция к снижению количества бактерий группы *C. leptum* ( $8,8 \pm 0,6$  и  $9,0 \pm 0,5$  соответственно,  $p=0,524$ ) и рода *Bifidobacterium* ( $7,2 \pm 1,4$  и  $8,1 \pm 0,8$  соответственно,  $p=0,599$ ), которая достигла статистической значимости при ожирении по сравнению с пациентками с нормальным ИМТ ( $9,0 \pm 0,5$  и  $8,3 \pm 1,0$ ,  $p=0,0195$  и  $6,8 \pm 2,5$  и  $8,1 \pm 0,8$ ,  $p=0,016$  соответственно). Среди УПМ, несмотря на отсутствие отличий между пациентками с нормальной и избыточной массой тела по количеству бактерий рода *Staphylococcus*, при ожирении их количество статистически значимо превышало таковое у пациенток с нормальным ИМТ ( $4,7 \pm 1,6$  и  $5,9 \pm 1,7$ ,  $p=0,015$  соответственно).



**Рисунок 22. Среднее количество микроорганизмов (ГЭ/г) в группе СПКЯ при нормальном ИМТ, избыточной массе тела и ожирении**

Статистически значимых различий между группами пациенток с нормальным ИМТ при избытке жировой ткани и без него не выявлено по основным показателям, за исключением уровня *Clostridium leptum* gr., титр которой был достоверно выше при отсутствии избытка жировой ткани и нормальном ИМТ ( $7,9 \pm 0,6$  и  $9,0 \pm 0,8$  соответственно,  $p=0,04$ ).

Таким образом, КМ при СПКЯ характеризуется снижением видового богатства и сдвигом баланса микроорганизмов в сторону увеличения представителей УПМ (*C. perfringens*, *C. difficile*, *Staphylococcus* spp., *S. aureus*, *T. ramosa*) и снижения симбионтов (*Clostridium leptum* gr., *Prevotella* spp., *E. coli*, *B. caccae*, *B. eggerthii*, *B. vulgatus*, *L. gasseri*, *L. rhamnosus*). Дисбаланс микробиоты ассоциирован наличием избытка жировой ткани, метаболическими нарушениями и хроническим субклиническим воспалением.

#### 4.2 Терапия пациенток с СПКЯ метформином

С целью коррекции эндокринно-метаболических нарушений при СПКЯ, 100 пациенткам проведено лечение метформином в суточной дозировке 1500 мг с предварительным ее титрованием. Эффект терапии оценивался через 3 и 6 месяцев терапии. В ходе исследования 2 пациентки были исключены в связи с

нежелательными явлениями (тошнота, рвота), 2 – в связи с наступившей беременностью, 4 – в связи острым воспалительным заболеванием, потребовавшим антибактериальной терапии, в период лечения (3 – инфекция дыхательных путей, 1 – кишечная инфекция). Таким образом, 92 пациентки завершили участие в исследовании.

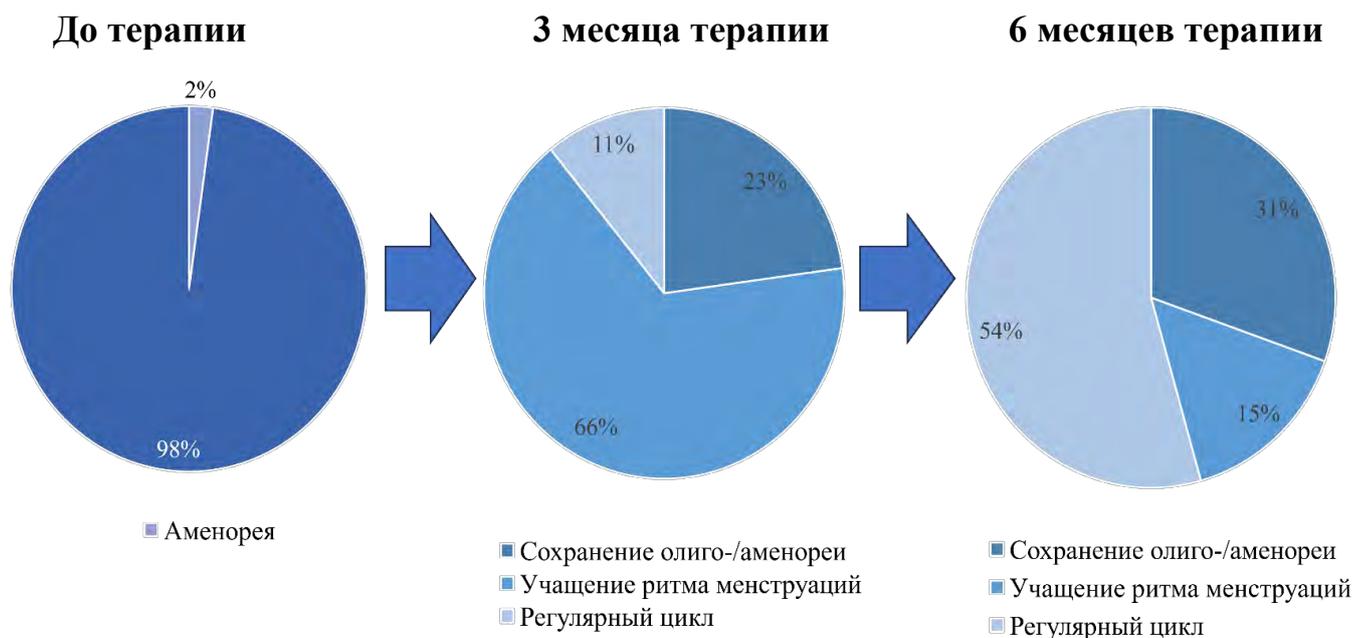
Средний возраст пациенток, получавших терапию метформинном, составил 25,47 (5,42) года, средний ИМТ – 25,82 (5,33) кг/м<sup>2</sup>. Избыточную массу тела имела 21/92 (22,8%) пациентка, ожирение – 17/92 (18,5%).

Исходно у всех пациенток выявлены нарушения менструального цикла: у 90/92 (97,8%) – олигоменорея, у 2/92 (2,1%) – аменорея. Клинические признаки гиперандрогении отмечали 66/92 (71,7%) пациенток, повышение уровня андрогенов в сыворотке крови – 79/92 (85,9%). Поликистозная морфология яичников по данным УЗИ отмечена у 88/92 (95,7%) больных.

Терапия считалась эффективной при регуляции цикла или в случае наличия 10 и более менструаций при пересчете на 1 год. Частичный эффект фиксировался при укорочении межменструального интервала на фоне терапии. Кроме того, оценивалась динамика изменения веса, характера распределения жировой ткани, уровней гормонов, маркеров хронического субклинического воспаления, глюкозы и инсулина натощак (с расчетом индекса НОМА), липидограммы и состава КМ на фоне терапии.

Через 3 месяца терапии регулярный ритм менструаций наблюдался у 10/92 (10,9%) пациенток, частичный эффект – у 61/92 (66,3%) пациенток, у 21/92 (22,8%) не было изменений ритма менструаций. Межменструальный интервал в среднем сократился на 29,4 (25,8) дней,  $p < 0,001$ . Жалобы на клиническую гиперандрогению в виде акне перестали предъявлять только 8/92 (8,7%) пациенток, средние показатели веса и ИМТ женщин на фоне терапии не изменились (таблица 17).

Через 6 месяцев терапии межменструальный интервал сократился в среднем на 64,2 (46,1) дня,  $p < 0,001$ . Полный эффект был достигнут уже у 50/92 (54,4%) пациенток, частичный – у 14/92 (15,2%), у 28/92 (30,4%) сохранялась олиго- или аменорея (рисунок 23).



**Рисунок 23. Динамика ритма менструации на фоне терапии метформином**

Через 6 месяцев 16/92 (17,4%) пациенток отмечали улучшение состояния кожи, снижение количества или исчезновение угревых высыпаний.

ИМТ пациенток с избыточной массой тела и ожирением снизился в среднем с  $25,82 \pm 5,33$  кг/м<sup>2</sup> до  $24,51 \pm 5,1$  кг/м<sup>2</sup> (таблица 16).

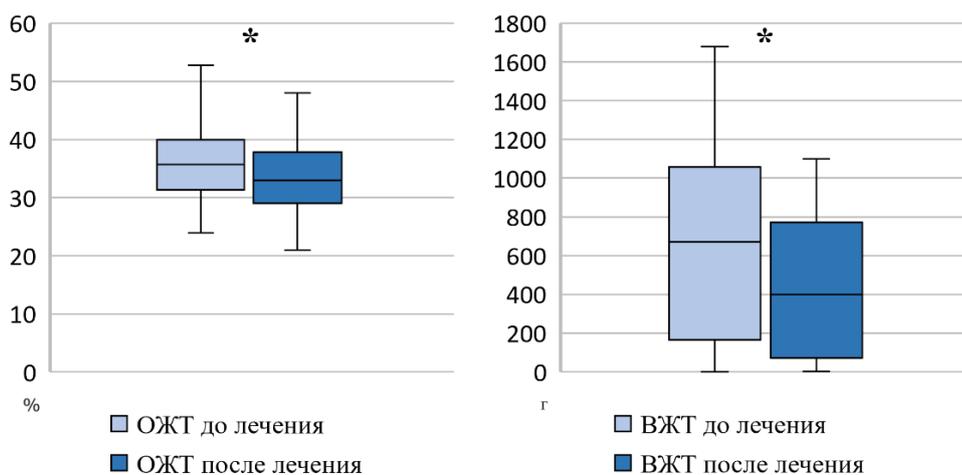
Таблица 16

**Клинико-антропометрические показатели пациенток до лечения и на фоне 3 и 6 месяцев терапии метформином**

	Начальная точка	3 месяца	6 месяцев
Регуляция цикла	0	10/92 (10,9%)*	49/92 (52,3%)**
Частичный эффект	-	61/92 (66,3%)	14/92 (15,2%)
Нет эффекта	-	21/92 (22,8%)	29/92 (31,5%)
Межменструальный интервал, ср	118,4 (51,9)	68,0 (37,1)**	54,3 (24,1)**
Среднее изменение	-	-50,4 (47,6)**	-64,2 (46,1)**
Клиническая гиперандрогения	66/92 (71,7%)	58/92 (63,0%)	50/92 (54,4%)*
ИМТ, ср	$25,82 \pm 5,3$	$25,49 \pm 5,3$	$24,99 \pm 5,0^*$

Примечание. \*p<0,05, \*\*p<0,01

После 6 месяцев терапии метформином отмечались значимые изменения композиционного состава тела – процент ОЖТ уменьшился с  $37,0 \pm 7,3\%$  до  $35,4 \pm 6,6\%$  после терапии,  $p < 0,001$ , и масса ВЖТ – с  $654,4 \pm 651,7$  г до  $382,5 \pm 416,2$  г,  $p = 0,001$  (рис. 24). Несмотря на это, частота избытка жировой ткани у пациенток с нормальной массой тела практически не изменилась – она составила 63/92 (68,5 %) до терапии и 52/92 (56,5%) после 6 месяцев терапии метформином,  $p > 0,05$ .



**Рисунок 24. Динамика изменений процента общей жировой ткани и массы висцеральной жировой ткани на фоне терапии**

*Примечание.* ОЖТ – общая жировая ткань, ВЖТ – висцеральная жировая ткань, \* $p < 0,05$

Через 6 месяцев терапии отмечалось статистически значимое снижение уровня ЛГ на 22,9%, андростендиона на 33,5% и Тобщ на 21,4%. Уровень ПССГ – повысился на 29,4%. Уровни АМГ и ФСГ в сыворотке крови существенно не изменились (таблица 17).

Таблица 17

**Гормональный профиль пациенток до и после 6-месячного курса терапии метформином (n=92)**

Лабораторные показатели	До терапии	После терапии	р-значение
АМГ, нг/мл	$13,48 \pm 6,54$	$12,32 \pm 6,16$	0,1114
ЛГ, мЕд/мл	$13,43 \pm 6,23$	$10,35 \pm 5,45$	<b>0,021</b>

ФСГ, мЕд/мл	5,67±1,82	5,32±1,87	0,346
Тобщ, нмоль/л	2,01±0,81	1,58±0,4	0,0196
Тсв, нмоль/л	3,04±1,92	1,67±1,07	0,0163
Андростендион, нмоль/л	17,56±9,1	11,68±4,95	0,0105
ИСА	5,33±1,03	4,03±1,17	0,1901
ПССГ, нмоль/мл	41,01±14,40	53,05±20,46	0,0023

*Примечание.* Парный t-критерий Стьюдента.

Среди метаболических показателей статистически значимого снижения достиг уровень инсулина натощак, который снизился на 27,1%, что отразилось и на снижении индекса НОМА ( $p=0,0060$ ). Показатели липидограммы значимо не изменились ( $p>0,05$ ) (таблица 18).

Частота ИР снизилась на 38,1% на фоне терапии метформином,  $p<0,05$ . Снижение частоты других нарушений не достигло статистической значимости: частота ДЛП снизилась с 33/92 (35,9%) до 30/92 (32,6%),  $p=0,642$ , НТГ – с 12/92 (13,0%) до 6/92 (6,5%),  $p=0,137$ , ГИ – с 36/92 (39,1%) до 28/92 (30,4%),  $p=0,216$ . Кроме того, была отмечена тенденция к снижению маркеров хронического субклинического воспаления.

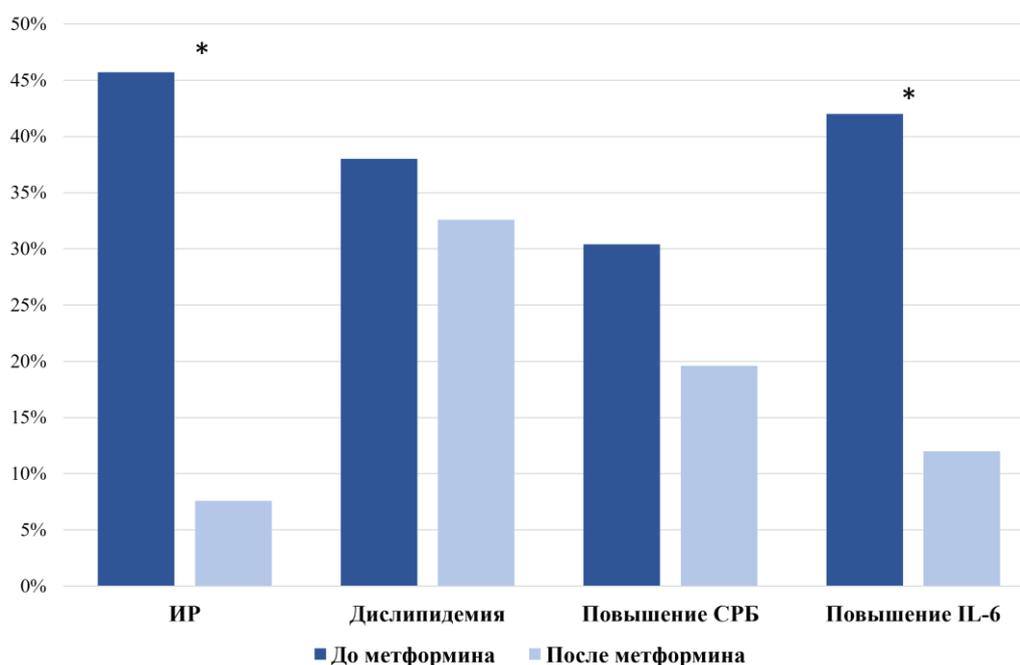
Таблица 18

**Метаболический профиль пациенток до и после 6-месячного курса терапии метформином (n=92)**

Лабораторные показатели	До терапии	После терапии	p-значение
Глюкоза натощак, нг/мл	5,03±0,38	5,09±0,66	0,7043
Глюкоза через 2 часа после нагрузки, ммоль/л	6,0 ±1,4	5,2 ± 1,3	<0,001

Инсулин натощак, мкЕд/мл	11,08±5,04	8,08±2,69	0,0043
Инсулин через 2 часа после нагрузки, мкМЕ/мл	55,2 (35,1;78,2)	52,3 (25,4;104,0)	0,054
Индекс НОМА	2,75±1,9	1,49±0,98	0,0060
ХС, ммоль/л	5,0±0,6	4,37±0,71	0,1205
ТГ, ммоль/л	0,8±0,14	1,49±1,11	0,5000
ЛПВП, ммоль/л	1,2±0,4	1,8±0,2	0,5000
ЛПНП, ммоль/л	2,8±0,6	2,6±0,5	0,5000
КА	2,5±0,9	2,2±0,5	0,5000

Количество пациенток с повышенным уровнем СРБ сократилось в 1,5 раза, с повышением IL-6 – в 3,5 раза (рис. 25).



**Рисунок 25. Динамика частоты метаболических нарушений и повышения маркеров ХСВ до и после терапии.**

Учитывая отсутствие регуляции цикла на фоне терапии примерно у половины пациенток, в дальнейшем было решено разделить их на группы с полным эффектом (1 группа) и отсутствием эффекта (2 группа).

При сравнении клинико-лабораторных параметров отмечен более низкий исходный уровень АМГ у пациенток с полным эффектом терапии. По остальным показателям не выявлено значимых различий как до лечения, так и после 6 месяцев терапии (таблица 19).

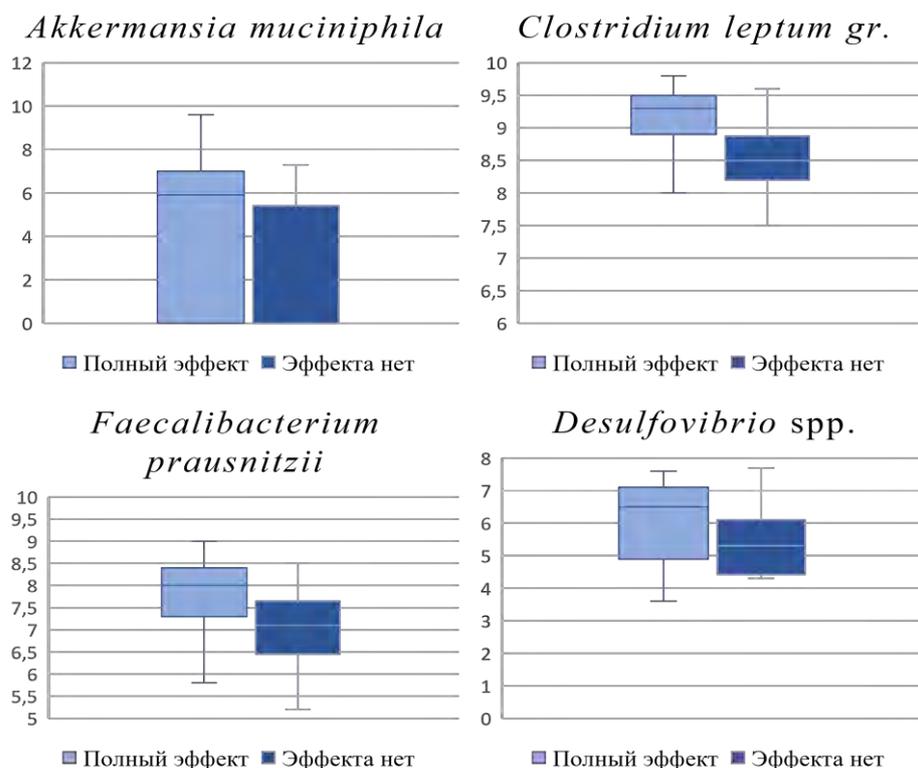
Таблица 19

**Клинико-лабораторные параметры пациенток в зависимости от эффекта терапии**

Клинико-лабораторные показатели	Пациенты, прошедшие 6-месячный курс терапии (n=92)			
	До терапии, эффекта нет	До терапии, полный эффект	После терапии, эффекта нет	После терапии, полный эффект
ИМТ, кг/м <sup>2</sup>	23,22±4,06	25,01±5,52	22,28±3,78	23,85±4,67
Возраст, лет	25,31±4,53	26,87±6,03	-	-
АМГ, нг/мл	14,87±6,6	9,85±5,72*	12,83±5,82	8,76±5,68
ЛГ, мЕд/мл	13,43±6,23	10,35±5,45	12,23±5,33	9,51±6,45
ФСГ, мЕд/мл	5,47±1,67	5,32±1,87	5,15±1,45	4,12±1,37
Т общ, нмоль/л	1,83±0,59	1,8±0,68	1,5±0,41	1,48±0,35
Т св, нмоль/л	2,38±1,64	2,31±1,49	2,32±1,73	1,73±0,87
Андростендион, нмоль/л	19,93±9,03	18,55±6,85	16,98±6,59	12,73±4,59
ПССГ, нмоль/мл	47,62±22,05	44,29±25,78	51,03±21,61	54,49±33,58
Глюкоза натощак, нг/мл	4,93±0,49	5,14±0,39	4,89±0,37	5,12±0,6
Глюкоза через 2 часа после нагрузки, ммоль/л	5,74±1,18	7,25±4,32	5,51±1,13	6,05±1,3

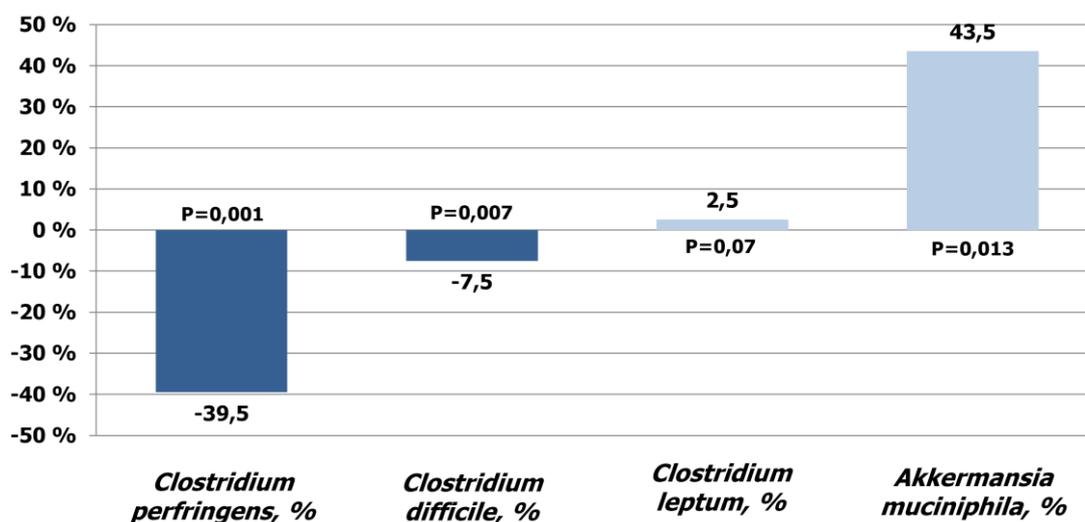
Инсулин натощак, мкЕд/мл	10,63±6,53	13,27±7,59	7,02±3,18	8,92±3,11
Инсулин через 2 часа после нагрузки, мкМЕ/мл	77,30±51,87	94,39±90,75	65,21±29,58	65,35±35,94
Индекс НОМА	2,41±1,78	3,08±1,86	1,59±0,73	2,03±0,72
ХС, ммоль/л	4,75±0,81	5,11±0,92	4,6±0,21	4,57±0,67
ТГ, ммоль/л	0,87±0,55	0,91±0,49	0,5±0,12	0,89±0,65
ЛПВП, ммоль/л	1,66±0,39	1,51±0,43	1,92±0,25	1,68±0,42
ЛПНП, ммоль/л	2,29±0,56	2,58±0,83	2,9±0,74	2,4±0,72
КА	2,5±0,9	2,2±0,5	2,4±0,6	2,1±0,4

Анализ состава КМ в этих подгруппах показал значимые отличия еще до терапии метформином. Методом ПЦР выявлены труднокультивируемые бактерио-симбионты в статистически значимо более высоком количестве, такие как *A. muciphila*, *C. leptum gr.*, *F. prausnitzii*, а также рода *Desulfovibrio* в группе с полным эффектом терапии в отличие группы без эффекта (рис. 26).



**Рисунок 26. Сравнительный анализ исходных титров бактерий *A. muciniphila*, *C. leptum gr.*, *F. prausnitzii*, *Desulfovibrio spp.* у пациенток с полным эффектом терапии и его отсутствием (Ig ГЭ/г)**

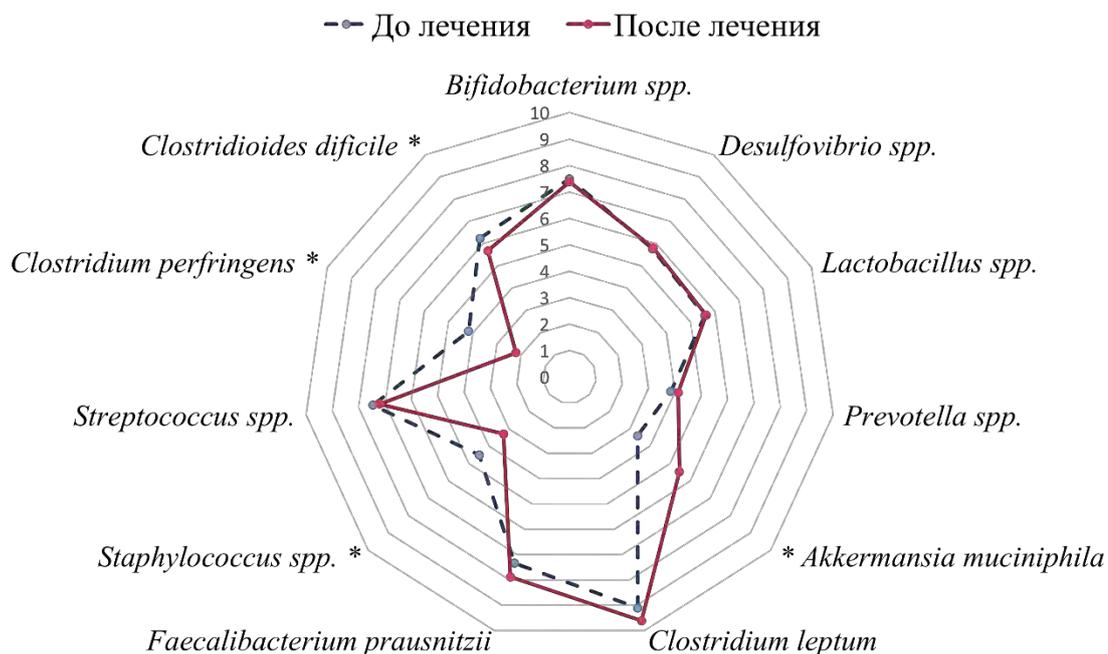
После 6 месяцев терапии в общей группе пациенток с СПКЯ обнаружены статистически значимые изменения. Наибольшая динамика отмечена по 2-м видам УПМ: *C. perfringens* и *C. difficile*, количество ДНК-копий которых снизилось в среднем на 39,5 и 7,5 % соответственно. Наряду с этим количество симбионта *A. muciniphila* (являющейся продуцентом бутирата) увеличилось на 43,5%. Отмечена тенденция к увеличению количества *Clostridium leptum gr.*, которое было снижено до лечения ( $p=0,07$ ). (рис. 27)



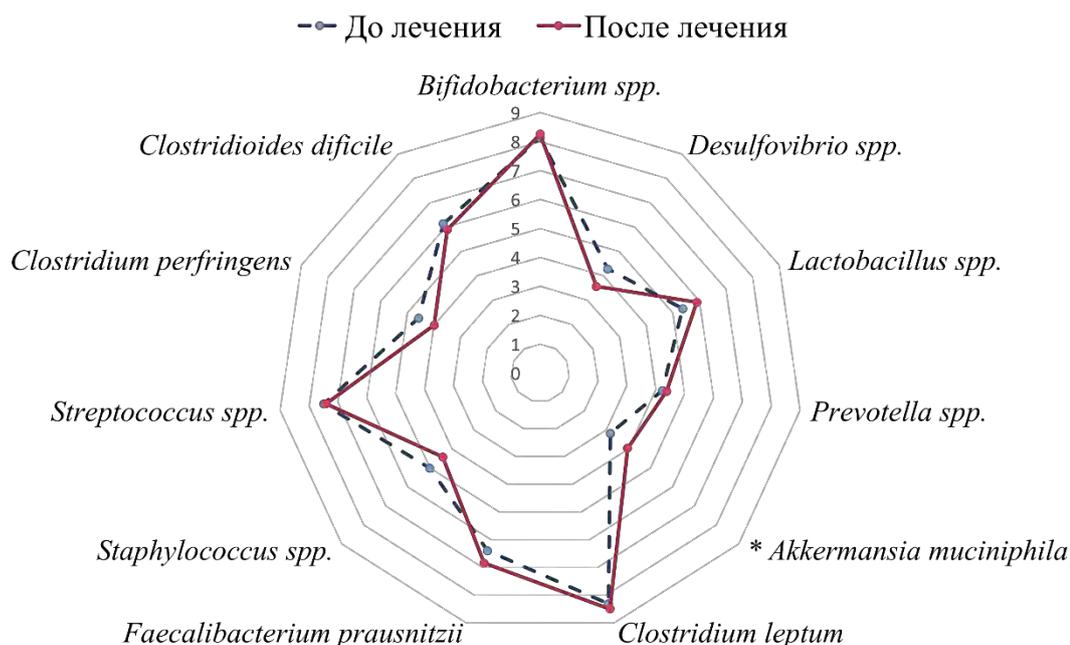
**Рисунок 27. Динамика количественных показателей состава микробиоты кишечника методом ПЦР на фоне терапии метформином**

Соотношение УПМ *C. difficile* gr. к симбионтам *C. leptum* gr. также уменьшилось после лечения за счет значительного снижения количества бактерий группы *C. leptum* gr. ( $0,0012 \pm 0,03$  и  $0,0006 \pm 0,001$ ,  $p=0,04$ ).

Последующий анализ показал, что изменения состава КМ после лечения достигли статистической значимости в основном за счет группы пациенток с эффектом от терапии метформином (рис.28).



a)

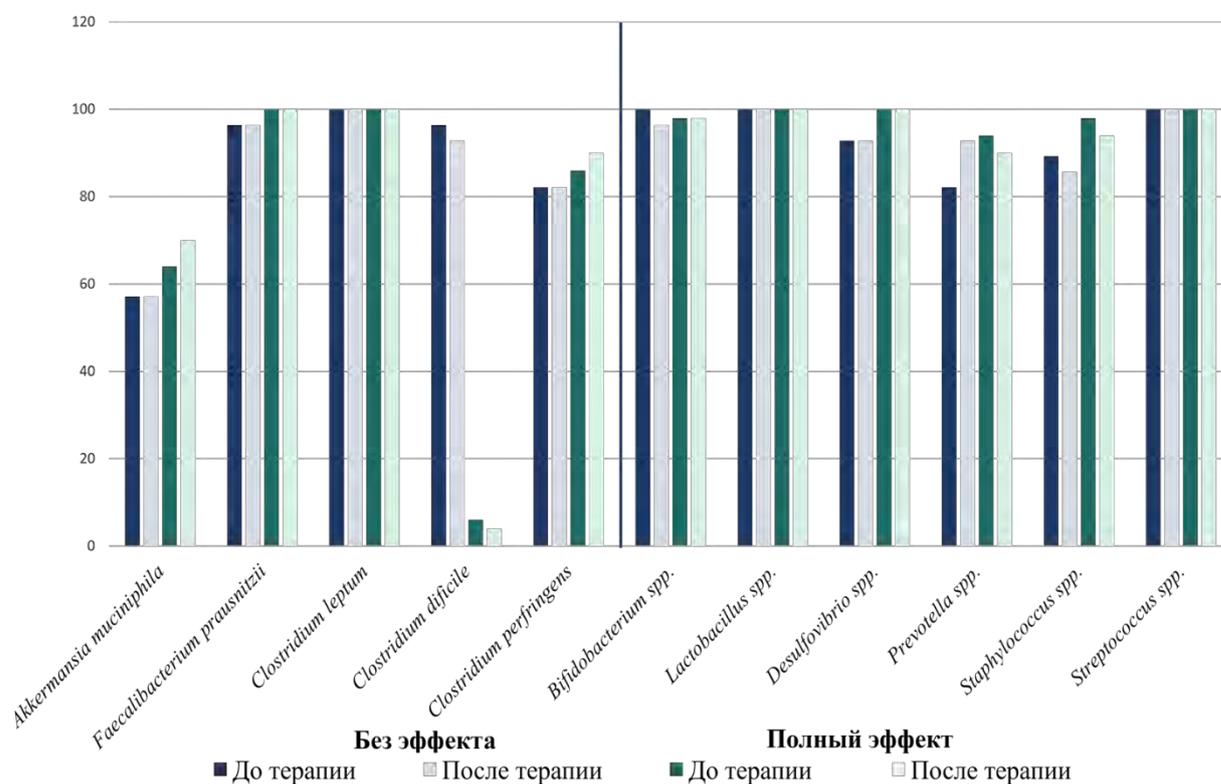


б)

**Рисунок 28. Динамика показателей бактериального состава микробиоты кишечника методом ПЦР на фоне терапии метформином в группах: а) полный эффект от терапии б) отсутствие эффекта от терапии (lg ГЭ/г).**

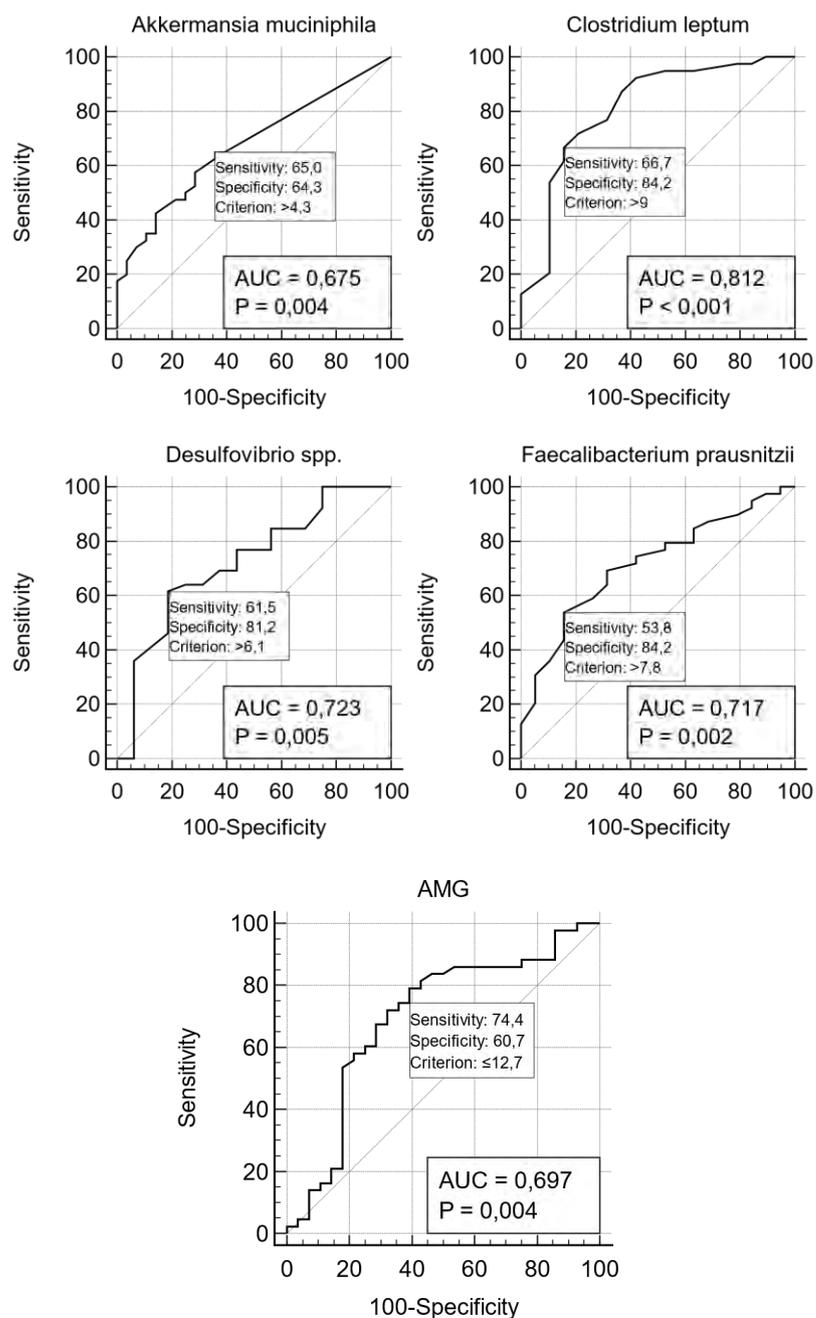
Так, в группе с полным эффектом терапии было установлено снижение количества ДНК-копий УПМ рода *Staphylococcus* на  $1,21 \pm 2,3$  Lg (ГЭ/г) (26,9%) и видов *C. perfringens* и *C. difficile* на  $1,96 \pm 2,2$  Lg (ГЭ/г) (46,9%) и  $0,56 \pm 0,7$  Lg (ГЭ/г) (8,9%) соответственно на фоне увеличения симбионта *A. muciniphila* на  $2,07 \pm 3,3$  Lg (ГЭ/г) (46,5%). Уровни других симбионтов – *Bifidobacterium spp.*, *Desulfovibrio spp.*, *Lactobacillus spp.*, *C. leptum*, *F. prausnitzii* – имели лишь тенденцию к увеличению ( $p > 0,05$ ).

В группе с отсутствием эффекта от терапии статистической значимости достигло только увеличение количества *A. muciniphila* на  $0,18 \pm 0,4$  Lg (ГЭ/г) (10,2%). Примечательно, что изменений в частоте встречаемости микроорганизмов в обеих группах на фоне лечения не было. Таким образом, динамика роста численности микроорганизмов наблюдалась исключительно при их изначальном наличии в КМ пациенток. (рис. 29)



**Рисунок 29. Частота встречаемости бактерий до и после терапии метформином в группах с полным эффектом и отсутствием эффекта**

Учитывая выявленные исходные различия между подгруппами с полным эффектом терапии и его отсутствием по гормональным и микробиологическим параметрам, с целью прогнозирования эффективности терапии, проведен ROC-анализ микроорганизмов, количество которых различалось между группами: *A. muciniphila*, *C. leptum gr*, *F. prausnitzii*, *Desulfovibrio spp.*, а также уровня АМГ. Наибольшей прогностической значимостью, наряду с АМГ, для которого пороговое значение составило 12,7 (AUC=0,697, чувствительность = 74,4%, специфичность = 60,7%), обладало количественное содержание в КМ симбионта *C. leptum gr*: титр выше 9 Lg (ГЭ/г) с чувствительностью 66,7% и специфичностью 84,2% может являться предиктором эффективности терапии метформином ( $p < 0,01$ , AUC=0,812) (рис. 30).



**Рисунки 30 а-д ROC-анализ, оценка значимости уровня АМГ и количества *Akkermansia muciniphila*, *Clostridium leptum* gr, *Faecalibacterium prausnitzii*, *Desulfovibrio* spp. для предикции эффекта терапии метформином**

На основании полученных результатов разработана модель для прогнозирования эффективности терапии метформином при СПКЯ. Уровень АМГ и численность группы бактерий *Clostridium leptum* могут рассматриваться как факторы, определяющие успешность терапии. Методом логистической регрессии рассчитанная на основе уровня АМГ в сыворотке крови и титра *Clostridium leptum*

gr., выявлена переменная, характеризующая вероятность регуляции менструального цикла на фоне терапии метформином.

Классифицирующая дискриминантная функция имеет вид:

$$Z = 0,045 * AMГ + 3,185 * Clostridium leptum gr. - 28,463, где$$

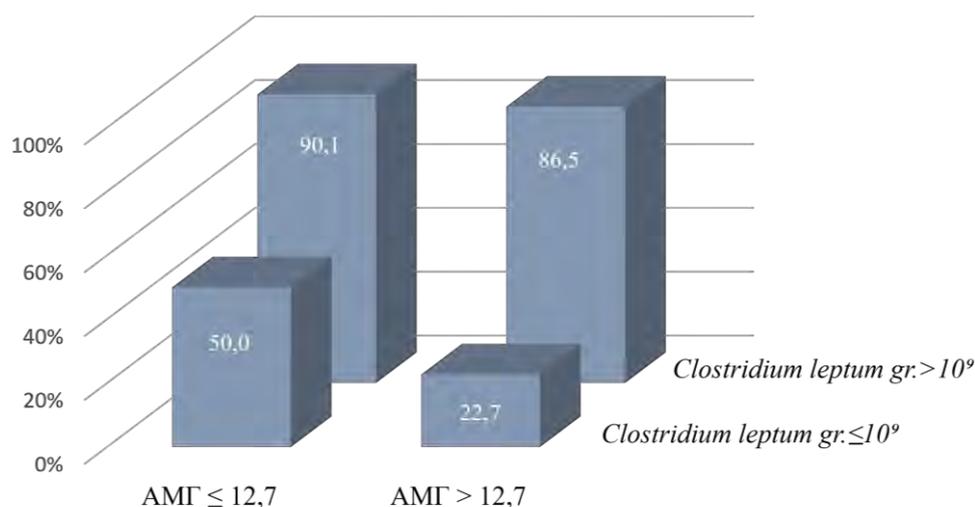
28,463 – константа

*Clostridium leptum gr.* – количество lg (ГЭ/г) микроорганизмов *Clostridium leptum gr.*, выявленных в кале методом ПЦР до терапии.

AMГ – уровень AMГ в сыворотке крови до терапии (нг/мл).

Вероятность регуляции ритма менструаций на фоне терапии метформином ( $p$ ) определялась по формуле  $p=1/(1+e^{-z})$ . При значении  $p$  больше 0,5 можно предположить полный эффект от терапии метформином, а при значении  $p$  меньше 0,5 успешность терапии маловероятна.

Точность прогнозирования эффективности терапии СПКЯ метформином с использованием вышеприведенных независимых переменных составляет 60,5%. Был проведен ROC-анализ для валидации полученной модели. Чувствительность составила 84% (69-93%), специфичность - 68% (48-84%), значение  $AUC$  (площадь под кривой) для данной модели составляет 0,85, 95 % доверительный интервал от 0,764 до 0,895 ( $p=10^{-14}$ ).



**Рисунок 31. Вероятность регуляции менструального ритма в зависимости от уровня AMГ и титра *Clostridium leptum gr.***

### 4.3 Терапия метформином и пробиотиком

С целью оценки эффективности добавления пробиотика к терапии метформином как на КМ, так и на метаболические параметры, случайным образом были отобраны 30 пациенток, которым в дополнение к метформину был рекомендован прием биологически активной добавки, содержащей комплекс из 14-ти видов живых пробиотических бактерий (по 2 капсулы 2 раза в день) в течение 3 месяцев.

Из исследования были исключены 6 пациенток: 4 – в связи с низкой комплаентностью, 1 – в связи с нежелательными явлениями (длительная рвота), 1 – в связи с острой кишечной инфекцией.

Таким образом, сравнительная оценка эффективности терапии была проведена у 116 пациенток с СПКЯ: группа метформин – 92, группа метформин + пробиотик – 24 пациентки.

Сопоставимо с группой монотерапии метформином, через 3 месяца лечения метформин + пробиотик регулярный ритм менструаций восстановился у 2/24 (8,3%) пациенток, частичный эффект отмечен у 11/24 (45,8%) пациенток, у 11/24 (45,8%) не было изменений ритма менструаций. Межменструальный интервал в среднем сократился на  $19,3 \pm 16,8$  дней,  $p < 0,001$ . Клиническая гиперандрогения снизилась незначительно – 3/24 (3,5%), средние показатели веса и ИМТ не изменились.

По прошествии 3-х месяцев терапии у данной группы пациенток, как и в группе монотерапии метформином, отмечалось статистически значимое снижение уровня ЛГ ( $14,13 \pm 5,11$  мЕд/мл до лечения и  $11,45 \pm 6,35$  мЕд/мл после лечения,  $p = 0,012$ ) и андростендиона ( $19,35 \pm 3,86$  нмоль/л до лечения и  $14,26 \pm 3,67$  нмоль/л после лечения,  $p = 0,0001$ ). Снижение уровней других андрогенов, АМГ и ФСГ на фоне 3-х месяцев терапии не достигло статистической значимости ( $p > 0,05$ ).

Помимо большего снижения уровней ЛПНП и КА на фоне комбинированной терапии в отличие от группы терапии метформином, не обнаружено различий по снижению других метаболических показателей (таб. 20).

**Метаболический профиль до и после 3-х месяцев лечения в зависимости от вида терапии**

Клинико-лабораторные показатели	Группа	До терапии	После терапии	р-значение
Глюкоза натощак, нг/мл	метформин	5,03±0,38	5,0±0,22	0,3344
	метформин +пробиотик	5,11±0,35	5,11±0,24	0,9545
Инсулин натощак, мкЕд/мл	метформин	11,08±5,04	9,29±4,7	0,0021
	метформин +пробиотик	12,82±7,94	9,11±3,95	0,0111
Индекс НОМА	метформин	2,75±1,9	2,08±1,11	0,0023
	метформин +пробиотик	3,17±1,96	1,38±1,24	0,0002
Холестерин	метформин	5,0±0,6	4,78±0,82	0,1602
	метформин +пробиотик	5,03±0,42	4,63±0,41	0,3173
ТГ	метформин	0,8±0,14	0,91±1,11	0,2930
	метформин +пробиотик	0,85±0,42	0,78±0,34	0,3910
ЛПВП, ммоль/л	метформин	1,2±0,4	1,41±0,3	0,5342
	метформин +пробиотик	5,11±0,35	5,11±0,24	0,9545
ЛПНП, ммоль/л	метформин	2,8±0,6	2,2±0,4	0,5000
	метформин +пробиотик	12,82±7,94	9,11±3,95	0,0111
КА	метформин	2,5±0,9	2,3±0,46	0,1469
	метформин +пробиотик	3,17±1,96	1,38±1,24	0,0002
ИР,%	метформин	45,7 (42/92)	27,2 (25/92)	0,010
	метформин +пробиотик	45,8 (11/24)	16,7 (4/24)	0,030

ДЛП,%	метформин	38,0 (35/92)	31,5 (29/92)	0,354
	метформин +пробиотик	45,8 (42/24)	29,2 (7/24)	0,234

Статистически значимого снижения частоты избытка IL-6 и СРБ не наблюдалось ни в одной из групп.

В группе, получавшей комбинацию метформина с пробиотиком, как и в группе метформина, отмечалось статистически значимое снижение количества ДНК-копий *S. difficile* (на 4,5%). Изменения количества ДНК-копий бактерий *S. perfringens* и *A. muciphila* не достигли статистической значимости.

**Таким образом,** терапия метформином при СПКЯ приводит к улучшению гормональных и метаболических параметров, снижению степени выраженности хронического субклинического воспаления, а также к снижению уровня обсемененности КМ УПМ на фоне повышения титров симбионтов. Восстановление ритма менструаций на фоне терапии метформином происходит лишь у половины пациенток. Большой эффект терапии следует ожидать у пациенток с уровнем АМГ  $\leq 12,7$  нг/мл и количеством ДНК-копий бактерий группы *Clostridium leptum* выше 9 Lg ГЭ/г, что может косвенно свидетельствовать, об эффекте метформина, опосредованном влиянием на КМ. Добавление пробиотика к терапии метформином не дает дополнительного положительного эффекта на метаболические параметры и состав КМ.

## Глава 5. Обсуждение полученных результатов

СПКЯ является социально значимой проблемой, затрагивающей эндокринные, репродуктивные, кардиометаболические, дерматологические и психологические аспекты. Частота встречаемости СПКЯ в среднем составляет 10-13%, однако у многих пациенток он может длительно оставаться недиагностированным [109]. Несмотря на то, что 83,3% обследованных пациенток ранее уже наблюдались у гинеколога, только у половины из них к моменту включения в исследование был установлен диагноз СПКЯ. Поскольку их средний возраст составил  $25,9 \pm 5,5$  лет, то задержка в постановке диагноза может быть связана с трудностями верификации синдрома у подростков ввиду отсутствия ультразвуковых критериев и широких дискуссий вокруг принципов диагностики овуляторной дисфункции, так как олигоменорея, наряду с мультифолликулярной структурой яичников, может являться нормой в пубертатном периоде. Кроме того, нередки случаи назначения гормональной терапии в связи с олигоменореей без определения уровней андрогенов и корректно проведенного УЗИ, что затягивает верификацию диагноза.

Традиционно для диагностики СПКЯ используются Роттердамские критерии, позволяющие выделить 4 фенотипа: А (ГА + ПКЯ + ОМ), В (ГА + ОМ), С (ГА + ПКЯ), и D (ПКЯ + ОМ). [145] Несмотря на двукратное обновление международных рекомендаций по СПКЯ за последние годы, не выявлено существенных различий между фенотипами, определяющих тактику ведения. На сегодняшний день СПКЯ не связывают с нарушениями гипоталамо-гипофизарно-яичниковой системы, поэтому в новой классификации овуляторных нарушений FIGO его даже выделяют в отдельную категорию, что говорит о сложности патогенеза синдрома [122]. В центре внимания научной общественности в настоящее время находятся метаболические нарушения и ИР, о чем убедительно свидетельствует обзор данных литературы 2023 года, проанализировавший 10526 статей, связанных с СПКЯ [22]. Взаимосвязь метаболической дисфункции с репродуктивными фенотипами является предметом дискуссий. В проведенном исследовании фенотип А, который считается наиболее тяжелым, был диагностирован у 65,9% пациенток,

неандрогенный фенотип (D) – у 20,7%, овуляторная дисфункция отсутствовала лишь в 1,5% случаев (фенотип C), ПКЯ – в 11,9% (фенотип B). Значимых различий по ИМТ между фенотипами найдено не было. Помимо этого, у каждой 3-й пациентки наблюдались нарушения обмена глюкозы в виде ИР, НТГ или ГИ, которые не коррелировали ни с гиперандрогенией, ни с ПКЯ, ни с нарушениями менструального цикла. Напротив, некоторые авторы выявили более высокую частоту ИР при андрогенных фенотипах СПКЯ, чем при неандрогенных (80% при фенотипах A и B, 65% – при фенотипе C, и 38% при фенотипе D [113]), что может свидетельствовать о непосредственном участии ИР в развитии ГА. Эта точка зрения поддерживается в работах последних лет, предлагающих выделить фенотипы A, B и C в отдельный «эндокринно-метаболический синдром», рассматривая в качестве СПКЯ только фенотип D [65, 178]. Существенный вклад в эту теорию внесло генетическое кластерное исследование, выявившее два подтипа СПКЯ, ассоциированных с различными хромосомными локусами: репродуктивный, характеризующийся более высоким уровнем ПССГ и низким ИМТ, а также уровнем инсулина, и метаболический, с более высоким ИМТ, уровнем глюкозы и инсулина, но более низким уровнем ПССГ [36]. Такая классификация может не только объяснить патогенетические механизмы развития разных подтипов синдрома, но и обеспечить дифференцированный подход к ведению больных.

Ввиду молодого возраста и отложенного планирования беременности, на первый план у большинства пациенток выходит не бесплодие, а олигоменорея и метаболические нарушения, приводящие к возрастанию риска метаболического синдрома, гиперпластических процессов эндометрия и сердечно-сосудистых заболеваний [45]. Особая роль в патогенезе этих процессов отводится ожирению, распространенность которого при СПКЯ по данным литературы может достигать 49%, в том числе около 54% приходится на центральное ожирение [169]. В данном исследовании частота избыточной массы тела и ожирения была относительно невысокой – 18,5% и 15,9% соответственно, однако метаболическая дисфункция, как и в других исследованиях [12, 166], встречалась часто: независимо от массы

тела, у 35,2% пациенток выявлена ИР, у 41,1% - ГИ, у 16,3% - НТГ, у 33,3% - дислипидемия. Избыточное накопление жировой ткани, ассоциированное с данными нарушениями, не всегда возможно диагностировать с помощью расчета ИМТ. Его оценка у пациенток с СПКЯ представлена лишь в небольшом числе научных публикаций, где использовались различные методы (биоимпедансный анализ, МРТ, денситометрия). В некоторых из них указывается на повышение процента общей жировой ткани, количества жировой ткани в абдоминальном регионе или увеличение соотношения жировой ткани области туловища и конечностей при СПКЯ по сравнению с контрольной группой [24, 86, 135, 193, 194]. В одном из исследований денситометрия не позволила выявить различий композиционного состава тела пациенток с СПКЯ и здоровых женщин [51].

В проведенном исследовании частота избыточной массы тела и ожирения составила 34,4%, тогда как избыток жировой ткани по данным денситометрии был диагностирован в два раза чаще – в 74,1% случаев и в 67,8% случаев был представлен висцеральной жировой тканью. Это свидетельствует о недостаточной значимости расчета ИМТ для оценки количества жировой ткани.

Хорошо известно, что избыточное накопление жировой ткани, особенно в висцеральной области, играет ключевую роль в развитии ИР [39, 149]. Считается, что это происходит за счет целого ряда механизмов, включая активацию иммунной системы, повышенный синтез адипоцитокинов, активных форм кислорода и жирных кислот, липотоксичность и митохондриальную дисфункцию, которые приводят к нарушению передачи сигналов инсулина посредством фосфорилирования серина или треонина, что нарушает стимулированное инсулином фосфорилирование тирозина инсулинового рецептора или его субстрата. [156] Снижение чувствительности клеток к инсулину и нарушение обмена глюкозы способствует гипергликемии, в ответ на что  $\beta$ -клетки поджелудочной железы секретируют больше инсулина. Перегрузка  $\beta$ -клеток в конечном счете приводит к их дисфункции с развитием СД 2 типа. [10]

Данные механизмы могут реализоваться и при отсутствии избыточной массы тела и ожирения. Еще в 1981 г. Rurerman и соавт. выявили когорту пациентов с

обменными нарушениями при нормальном ИМТ и предложили термин «метаболическое ожирение при нормальном весе» (metabolically obese normal weight)[147]. До настоящего времени не разработаны критерии данного состояния, часто его характеризуют наличием ИР и избытка жировой ткани[149].

В проведенном исследовании оценка метаболического профиля пациенток выявила достаточно высокую частоту нарушений у пациенток с ИМТ < 25 кг/м<sup>2</sup>: ИР и ГИ присутствовала у 20,3% и 30,5% женщин соответственно, НТГ – у 10,5%, ДЛП – у 24,9% женщин. Распространенность НТГ и ДЛП при избыточной массе тела была сопоставимой – 18,0% и 34,0% соответственно. Анализ показателей денситометрии выявил избыток общей жировой ткани у 59,3% пациенток с нормальным ИМТ, в 28,2% случаев представленный повышенным количеством ВЖТ. Полученные результаты согласуются с данными о повышенном количестве жировой ткани у пациентов с СПКЯ в отличие от здоровых женщин, сопоставимых по росту и массе тела в других исследованиях [96, 144]. Тем не менее некоторые авторы не обнаружили увеличения процента ОЖТ у пациенток с нормальной массой тела при СПКЯ, тогда как был диагностирован избыток жировой ткани области туловища, ассоциированный с ИР в 30% случаев [24]. В настоящем исследовании аналогичным образом при избытке жировой ткани и нормальной массе тела ИР была выявлена в 28,6% случаев, а индекс ИР НОМА положительно коррелировал с количеством ВЖТ ( $r=0,600$ ,  $p<0,01$ ). Эти результаты подтверждают значимую роль жировой ткани в возникновении ИР и компенсаторной ГИ, следствием которых является ГА и овуляторная дисфункция, характерные для СПКЯ. Тем не менее низкая частота метаболических нарушений у пациенток с нормальным ИМТ без избытка жировой ткани (ИР встречалась лишь у 8,3% женщин, НТГ – у 4,2%) ставит под сомнение роль ИР в этиологии СПКЯ. Несмотря на отсутствие различий в андрогенном профиле между этой подгруппой и подгруппой пациенток с избытком жировой ткани при нормальном ИМТ, у последних обнаружены более высокие уровни ПССГ и инсулина в сыворотке крови, что согласуется с данными приведенного выше генетического исследования, выделившего репродуктивный и метаболический подтипы СПКЯ, и

может свидетельствовать в пользу биологической гетерогенности синдрома [36]. Авторы этой статьи предполагают, что генетическая предрасположенность, наряду с факторами окружающей среды, через эпигенетические механизмы могут способствовать возникновению подтипов СПКЯ. Таким образом, наличие заболевания само по себе может являться независимым фактором риска избытка жировой ткани и ожирения, которые усугубляют его течение, провоцируя метаболическую дисфункцию. Об этом свидетельствуют также результаты исследований, выявивших увеличение частоты ИР, ассоциированное с повышением массы тела при СПКЯ, причем в одной из работ показано, что эти изменения были более значимыми по сравнению с женщинами из контрольной группы, сопоставимыми по массе тела [114, 162]. Исходя из этого не вызывает сомнения целесообразность проведения ПГТТ и денситометрии при СПКЯ независимо от массы тела для своевременной диагностики метаболических нарушений и избытка жировой ткани.

Основным ограничением выполнения денситометрии является доступность аппарата с программой оценки композиционного состава тела, включая висцеральную жировую ткань, для широкой клинической практики. В связи с этим был проведен поиск порогового значения ИМТ для оценки риска избытка жировой ткани и метаболических нарушений. Оказалось, что при ИМТ  $>23$  кг/м<sup>2</sup> у всех больных наблюдался избыток ОЖТ. ГИ и ДЛП встречались в 2 раза чаще, ИР – в 3, а НТГ – в 6,5 раз чаще, чем при ИМТ  $\leq 23$  кг/м<sup>2</sup>. Это свидетельствует о возможности использования ИМТ  $>23$  кг/м<sup>2</sup> в качестве порогового значения для диагностики избытка жировой ткани и ассоциированных с ним метаболических нарушений у пациенток с СПКЯ при недоступности оценки композиционного состава тела методом денситометрии.

Еще одной альтернативой предикции метаболической дисфункции считается уровень адипоцитокинов – биологически активных веществ, синтезируемых жировой тканью, которые вносят значительный вклад в развитие воспаления и ИР. В проведенном исследовании уровень лептина при СПКЯ повышался с увеличением массы тела, однако практически не отличался от здоровых женщин.

Статистических различий в этих группах достигли уровни адипонектина: у пациенток он был ниже (12,0 (8,6;15,8)), чем в подгруппе сравнения с ИМТ $\geq$ 25 кг/м<sup>2</sup> (45,5 (15,3;72,0),  $p < 0,025$ ), однако его корреляция с маркерами хронического воспаления и количеством жировой ткани была слабой. Исходя из этого, анализ уровней адипоцитокинов оказался малоинформативным, по-видимому, в связи с тем, что в исследование были включены пациентки с относительно невысоким ИМТ.

Метаболическая дисфункция часто ассоциирована с хроническим субклиническим воспалением. [47, 84] Однако, если взаимосвязь воспаления с ожирением подтверждена данными литературы, то вероятность повышения провоспалительных маркеров при нормальной массе тела, остается предметом дискуссий.

В данном исследовании проведена оценка уровней основных провоспалительных цитокинов и СРБ в сыворотке крови пациенток с СПКЯ с учетом ИМТ и композиционного состава тела. Выявлено повышение уровней IL-6, TNF- $\alpha$  и СРБ по сравнению со здоровыми женщинами, имеющими нормальную массу тела. Эти данные оказались сопоставимы с результатами мета-анализа 31 клинического исследования, проведенного Escobar-Moralle et al. (2011), в котором авторы пришли к выводу, что уровень СРБ у пациенток с СПКЯ статистически значимо выше, чем у здоровых женщин, что может отражать взаимосвязь СПКЯ и ХСВ. Связи СПКЯ с уровнями IL-6 и TNF- $\alpha$  в этом исследовании обнаружено не было [47]. Вместе с тем существует немало данных об их повышении у пациенток с СПКЯ [30, 47, 59, 70, 97] .

При разделении пациенток на подгруппы в соответствии с ИМТ обнаружено, что уровни провоспалительных цитокинов и СРБ, а также частота повышения IL-6 у пациенток с СПКЯ без ожирения статистически значимо не отличались от таковых у женщин с без СПКЯ с ожирением и избыточной массой тела. Наличие избытка ОЖТ у всех пациенток с СПКЯ при ИМТ $\geq$ 25 кг/м<sup>2</sup> было ассоциировано с лабораторными признаками ХСВ в 71,1% случаев. Существует такое понятие как «метаболическое воспаление», которое возникает вследствие гипертрофии

адипоцитов и накопления в жировой ткани иммунных клеток, секретирующих провоспалительные цитокины, у пациентов с избытком жировой ткани [8]. Это позволяет предположить, что именно жировая ткань является основным источником провоспалительных цитокинов, усугубляющих течение СПКЯ, что подтверждает целесообразность оценки композиционного состава тела методом денситометрии жировой ткани у таких пациенток с целью выявления факторов риска не только метаболической, но и эндотелиальной дисфункции, формирующейся уже в молодом возрасте [7].

Однако существует и другая точка зрения, согласно которой ХСВ при СПКЯ ассоциировано с гиперандрогенией, а не жировой тканью. В мета-анализе Aboeldalyl S. et al. эта позиция обсуждается в связи с тем, что уровни СРБ при неандрогенном фенотипе СПКЯ оказались выше, чем при андрогенном и сопоставимы с контрольной группой [8]. В проведенном нами исследовании не получено данных о взаимосвязи уровня андрогенов с маркерами ХСВ, тогда как корреляция провоспалительных цитокинов и СРБ с показателями композиционного состава тела, и особенно с ВЖТ, оказалась достаточно высокой: коэффициент корреляции достиг 0,7.

В последнее время большой научный интерес вызывает вопрос о взаимосвязи ХСВ и метаболической дисфункции с нарушением состава кишечной микробиоты ввиду активного взаимодействия микроорганизмов с иммунной системой человека, синтезом ими биологически активных веществ, участвующих в регуляции обменных процессов. Хотя основные биологические функции микробиоты ассоциированы с ее локализацией, роль микроорганизмов выходит далеко за рамки конкретного биотопа. Так, КМ участвует не только в пищеварении, поддержании энергетического баланса и барьерной функции кишечника, но и в депонировании жиров, формировании кровеносных сосудов, регуляции нервной и иммунной системы, метаболизме лекарственных средств и др. [79, 105]. Устойчивое равновесие между КМ и организмом человека обеспечивает регуляцию гомеостаза и резистентность к различным патологиям. Нарушение стабильности КМ, обусловленное образом жизни или воздействием внешних факторов, может

приводить как к воспалительным, так и к не воспалительным системным заболеваниям [55, 138]. Такие нарушения могут включать функциональные и композиционные изменения КМ и часто называются дисбиозом. Исследования показывают значительную гетерогенность профиля КМ при различных патологических состояниях. Помимо этого, в кишечнике человека присутствует несколько сотен видов бактерий, часть из которых имеет схожие функции, вследствие чего потеря одних может быть компенсирована другими, что интерпретируется как функциональная избыточность. Все это затрудняет поиск микроорганизмов, потенциально вовлеченных в патогенез или являющихся непосредственной причиной заболеваний, ассоциированных с метаболической дисфункцией, к числу которых относится СПКЯ.

Тем не менее, именно потерю функциональной избыточности вследствие снижения разнообразия микроорганизмов и/или различных изменений их состава связывают с развитием ожирения, метаболического синдрома и СД 2 типа [25, 95, 181]. Многочисленные данные свидетельствуют об ассоциации снижения разнообразия КМ с инсулинорезистентностью и ожирением [27, 202]. Рассчитанный нами индекс видового богатства Маргалефа, применяющийся для оценки альфа-разнообразия, имел более низкие значения при СПКЯ в отличие от здоровых женщин, сопоставимых по ИМТ, и снижался при ожирении. Это также может указывать на взаимосвязь нарушений КМ с развитием СПКЯ и их усугубление при увеличении массы тела.

Несмотря на индивидуальные различия в разнообразии и видовом составе микроорганизмов, большинство представителей КМ относятся к четырем типам современной биологической систематики: *Bacteroidota*, *Bacillota*, *Actinomycetota* и *Pseudomonadota*, среди них преобладают *Bacteroidota*, и *Bacillota* [6]. Наиболее многочисленными как по данным литературы, так и по результатам проведенного исследования, являются представители родов *Clostridium* (тип *Bacillota*), *Bacteroides* (тип *Bacteroidota*) и *Escherichia* (тип *Pseudomonadota*). Важно отметить, что если большинство представителей хорошо известных родов *Lactobacillus* и *Bifidobacterium* являются симбионтами (приносят пользу организму), то род

*Clostridium* включает как патогенные виды: возбудители столбняка (*C. tetani*), ботулизма (*C. botulinum*), псевдомембранозного колита (*C. difficile*) и пищевых отравлений (*C. perfringens*), так и симбионтные: группа продуцентов КЖК *Clostridium leptum* (в т.ч. *Faecalibacterium prausnitzii* – доминирующий вид бактерий в толстом кишечнике).

Предполагается, что снижение численности симбионтов приводит к сокращению синтеза КЖК, регулирующих обмен глюкозы, окисление ЖК и даже аппетит, а также желчных кислот, способствующих пищеварению и эмульгированию жиров, что может служить предпосылкой к развитию дислипидемии и инсулинорезистентности при СПКЯ [199]. В проведенном исследовании у пациенток с СПКЯ по сравнению со здоровыми женщинами отмечалась более низкая численность симбионтных бактерий (группы *Clostridium leptum*, *Prevotella* spp., *B. vulgatus*, *B. eggerthii*, *B. caccae*, *L. gasseri* и *L. rhamnosus*), что усугублялось на фоне увеличения массы тела. Исследования показали, что бутират – один из наиболее значимых КЖК, продуцируемых этими микроорганизмами – может стимулировать секрецию кишечных гормонов глюкагоноподобного пептида и пептида YY, которые играют важную роль в снижении уровня глюкозы в крови, способствуя секреции инсулина и чувству насыщения [31, 171, 189]. Кроме того, он поддерживает барьерную функцию кишечника [110], выработку муцина [93] и оказывает противовоспалительное действие [132], в связи с чем снижение численности бактерий, продуцирующих его может вносить вклад в развитие ХСВ и ИР. Это подтверждается рядом исследований, обнаруживших более низкие титры *F. prausnitzii* (из группы *C. leptum*) и *Akkermansia muciniphila* (*A. muciniphila*) у пациентов с СД 2 типа и ожирением, а также и их обратную корреляцию с маркерами воспаления и ИР [50, 60, 165]. В одной из работ, где анализировались образцы фекалий 382 пациентов с ожирением, отрицательная взаимосвязь рода *Akkermansia* с уровнем глюкозы натощак оставалась статистически значимой даже при пересчете на пол, возраст, образ жизни и прием препаратов [200] *A. muciniphila* — это бактерия, способная использовать муцин в качестве источника углерода, азота и энергии, продуцируя

при этом ацетат и пропионат [37]. Полагается, что эти КЖК влияют на функцию  $\beta$ -клеток поджелудочной железы, увеличивая секрецию инсулина и снижая уровень глюкозы в крови [20]. Помимо этого, в экспериментах на мышах был показан противовоспалительный эффект *A. muciniphila* в виде снижения уровня цитокинов и экспрессии генов воспаления [140].

Имеются данные о том, что *L. gasseri*, снижение которой обнаружено в проведенном исследовании у пациенток с СПКЯ, увеличивает экспрессию инсулинзависимого мембранного белка-переносчика глюкозы GLUT-4, нарушение функции которого провоцирует ИР. Кроме того, бактерии *Bifidobacterium lactis* улучшают транслокацию GLUT-4 в клетках и стимулируют опосредованное инсулином поглощение глюкозы, а *Bacteroides acidifaciens*, *L. gasseri*, *L. casei*, *A. muciniphila* увеличивают окисление жирных кислот, что может приводить к снижению фосфорилирования рецептора инсулина и увеличению его активности [73].

Помимо снижения численности симбионтов, проявлением дисбаланса КМ включает также чрезмерный рост УПМ, который может снижать экспрессию белков плотных соединений, увеличивая проницаемость кишечника и способствуя проникновению токсинов (в частности, ЛПС) в системный кровоток, где они активируют иммунную систему, вызывая хроническое субклиническое воспаление [175]. Считается, что у здоровых людей белки плотных соединений поддерживают целостность кишечного барьера, вследствие чего ЛПС не проходит в системный кровоток и максимальная его концентрация наблюдается в просвете кишечника [71]. Показано, что проникновение ЛПС в кровоток или «метаболическая эндотоксемия» ассоциирована с повышенной проницаемостью кишечника, вызванной нарушением состава КМ [63]. Связывающиеся в кровяном русле с ЛПС-связывающим белком и мембраносвязанным рецептором CD14 эндотоксины взаимодействуют с TLR4, влияя как на воспалительные, так и на инсулиновые сигнальные пути [34, 91], что, в свою очередь, индуцирует NF- $\kappa$ B-опосредованное воспаление с последующим развитием ИР. Выявленная в данном исследовании большая частота обнаружения и популяция условно-патогенных гамма-

протеобактерий семейства *Enterobacteriaceae* и бета-протеобактерий, относящихся к порядку *Burkholderiales* в сочетании с нарушением проницаемости клеточной стенки ЖКТ могут приводить к повышенной продукции эндотоксина – липополисахарида (ЛПС). Кроме того, небольшие концентрации других энтеропатогенных токсинов, продуцируемых *C. perfringens* и *S. aureus*, численность которых была повышена при СПКЯ, также могут способствовать развитию ХСВ. Выявленные слабopоложительные корреляции между УПМ и маркерами ХСВ могут быть следствием многофакторности воспаления при СПКЯ и большого количества промежуточных веществ, индуцирующих синтез провоспалительных цитокинов. Хотя уровень бактериальных токсинов в сыворотке крови в данной работе не оценивался, они могут играть важную роль во взаимосвязи КМ с СПКЯ. Это позволяет предположить, что дисбаланс микробных сообществ кишечника, наряду с генетическими и эпигенетическими факторами, может являться дополнительной детерминантой развития метаболических нарушений и ожирения при СПКЯ.

Гетерогенность СПКЯ затрудняет не только его диагностику, но и разработку оптимальных схем терапии. Лечение носит симптоматический характер, а все применяемые лекарственные препараты назначаются «off-label», что не позволяет добиться максимального эффекта, а нередко снижает приверженность к терапии за счет нежелательных явлений. Наряду с КОК, достаточно широко используют инсулиносенситайзеры, в частности – метформин, оказывающий плеiotропное воздействие. Хорошо известно о его положительном влиянии на метаболизм глюкозы за счет снижения глюконеогенеза в печени, уменьшения ее абсорбции в кишечнике, увеличения ее периферической утилизации, а также увеличения секреции глюкагоноподобного пептида-1 [142] Показано, что метформин может также снижать выраженность хронического воспаления как косвенно за счет улучшения метаболических параметров, так и напрямую за счет своего противовоспалительного действия [19] Регулярный менструальный цикл на фоне терапии метформином восстанавливается лишь у 45-60% женщин с СПКЯ независимо от ИМТ и метаболических параметров. Предикторы ответа на терапию

до настоящего времени не разработаны. Кроме того, ввиду выявленных нарушений КМ, особый интерес представляет влияние метформина на бактериальный состав кишечника и возможность увеличения эффективности терапии путем коррекции микробиоты пробиотиком.

После проведения терапии метформином в течение 6 месяцев регулярный ритм менструаций восстановился у 54,4% женщин, у 15,2% отмечалась положительная динамика, однако сохранялась олигоменорея, в 30,4% случаев терапия оказалась неэффективной. Полный эффект терапии наблюдался при более низком исходном уровне АМГ и более высокой численностью симбионтных бактерий группы *Clostridium leptum* (в т.ч. *Faecalibacterium prausnitzii*), *Akkermansia muciniphila* и *Desulfovibrio*. Наиболее значимыми предикторами эффективности терапии оказался уровень АМГ и количество микроорганизмов *C. leptum gr.* Проведенное исследование позволило разработать математическую модель, с помощью которой можно прогнозировать успешность терапии СПКЯ метформином на начальном этапе. Согласно этой модели, у пациенток с уровнем АМГ 12,7 нг/мл и менее и количеством микроорганизмов *C. leptum gr.* выше  $10^9$  ГЭ/г вероятность регуляции ритма менструаций достигает 90,1%, в то время как у пациенток с уровнем АМГ более 12,7 нг/мл и количеством микроорганизмов *C. leptum gr.* ниже  $10^9$  ГЭ/г – только 22,7%. Прогнозирование ответа на терапию МФ позволяет оптимизировать тактику ведения пациенток с СПКЯ, и при заведомо неблагоприятном прогнозе целесообразно выбирать альтернативные методы или комбинированную терапию.

Научные публикации по изучению эффективности терапии метформином на регуляцию цикла, немногочисленны. Как и в проведенном исследовании, К. Welt и соавт. (2014) отмечают частоту восстановления овуляторного менструального цикла на фоне 12 месяцев терапии метформином у 61% женщин с СПКЯ независимо от антропометрических показателей и результатов ГТТ [131]. Другое исследование продемонстрировало более быстрое (в течение 6 месяцев) восстановление менструального цикла при повышенном уровне тестостерона в отличие от пациенток с его нормальным уровнем, у которых эффект был достигнут

только через 12 месяцев терапии [192]. Отсутствие взаимосвязи метаболических параметров с эффектом терапии метформином может указывать на механизм его влияния посредством снижения уровня ЛГ, а также непосредственного воздействия на активность клеток гранулезы яичника.

Терапия метформином у участниц исследования привела не только к снижению частоты инсулинорезистентности, маркеров ХСВ (в виде снижения частоты гиперсекреции IL-6), но и к повышению в кишечнике колонизационных показателей симбионтных бактерий вида *A. muciniphila* и снижению УПМ *S. perfringens* и *C. difficile*, что может указывать на возможную взаимосвязь действия метформина с коррекцией состава КМ. Восстановление баланса микробных сообществ вероятно может способствовать снижению уровня эндотоксемии и как следствие – ХСВ и ИР. Нао W. и соавт. (2017) изучали прямое воздействие метформина на КМ *in vitro*. Они продемонстрировали увеличение количества *A. muciniphila* на фоне терапии, а также после трансплантации КМ от пролеченных метформином доноров стерильным мышам, что привело к улучшению толерантности к глюкозе. Авторы предполагают, что такой эффект опосредован регуляцией экспрессии генов, кодирующих металлопротеины бактерий кишечника, а также его влиянием на метаболиты КМ, в том числе КЖК [187].

Коррекция КМ может быть перспективным направлением модификации метаболических параметров и массы тела, однако важно отметить, что она подвержена динамическим изменениям под воздействием многих факторов: характер питания и индивидуальные особенности пассажа веществ по кишечнику, физическая активность, вредные привычки, лекарственные препараты. Методы терапевтического воздействия на ее состав ограничены имеющимися традиционными пробиотиками, в состав которых входят безопасные для организма молочнокислые бактерии и бифидобактерии. Включение новых штаммов в пробиотические добавки требует исследований по их безопасности и возможным отдаленным последствиям влияния на организм. Так, например, описаны положительные эффекты *Akkermansia muciniphila* (тенденция к снижению которой при СПКЯ была обнаружена в проведенном исследовании) в виде поддержания

барьерной функции кишечника, повышения чувствительности к инсулину, снижения метаболического воспаления и синтез КЖК, что реализуется даже в пастеризованном состоянии, благодаря чему Европейское управление по безопасности пищевых продуктов (EFSA) недавно одобрило использование пастеризованной *Akkermansia muciniphila* в качестве нового безопасного продукта питания. Несмотря на это, имеются ограниченные данные об отсутствии ее влияния на метаболические параметры и ожирение, а также о возможном отрицательном эффекте, опосредованном чрезмерной деградацией муцина при воспалительных заболеваниях кишечника [28].

В последнее время накапливаются данные о снижении уровня гиперинсулинемии, улучшении показателей липидного профиля и снижении массы тела на фоне применения традиционных пробиотиков при СПКЯ [9, 16, 198]. Механизм такого воздействия может включать антиоксидантный, противовоспалительный эффект микроорганизмов, снижение ЛПС, регуляцию аппетита и обмена веществ, включая снижение абсорбции липидов в кишечнике, действие и характеристики пробиотиков зависят от конкретных штаммов и не могут быть экстраполированы на другие разновидности бактерий [130].

В проведенном нами исследовании не выявлено статистически значимых различий между гормональными, метаболическими показателями и составом КМ в группах монотерапии метформином и его комбинацией пробиотиком, содержащим 14 видов молочнокислых и бифидобактерий. Хотя в недавно проведенном мета-анализе, включающем 14 исследований, авторы пришли к выводу, что добавление пробиотика к терапии метформином приводит к более значимому снижению уровня глюкозы и гликированного гемоглобина, а также снижает частоту побочных явлений [111], следует принимать во внимание, что виды и штаммы бактерий, входящих в состав пробиотиков, в разных исследованиях могут значительно отличаться. Кроме того, можно предположить недостаточный эффект молочнокислых и бифидобактерий, входящих в состав исследуемого пробиотика, на КМ в данной когорте пациенток. Ввиду того, что значимые изменения КМ, обнаруженные у пациенток с СПКЯ, касались многочисленной группы *S. leptum*,

включающей 4 вида симбионтных бактерий: *C. leptum*, *C. sporosphaeroides*, *C. cellulosi* и *Faecalibacterium prausnitzii*, численность которых играла роль в предикции эффекта терапии, можно предположить, что восстановление популяции именно этих микроорганизмов окажет положительное влияние на метаболические и репродуктивные параметры пациенток.

На сегодняшний день разработка таких пробиотиков нового поколения – метабиотиков, является одним из наиболее развивающихся направлений. Проводятся исследования с использованием нетрадиционных кишечных симбионтов – таких как *A. muciniphila*, *F. prausnitzii*, *Eubaterum hallii* представителей кластеров клостридий IV, XIVA и XVIII и др. и их метаболитов, однако пока недостаточно данных для их применения в широкой клинической практике [3]. Помимо этого, проводятся попытки трансплантации КМ от здоровых доноров для коррекции метаболических нарушений и даже снижения массы тела пациентам с МС и СД 2 типа. Показано, что ТКМ улучшает периферическую чувствительность к инсулину и снижает уровень гликированного гемоглобина у пациентов с МС, однако разные методики ТКМ и ограниченность количества исследований не позволяют однозначно судить о клинической значимости данного метода. [134, 180]

Одним из существенных факторов, влияющих не только на количество жировой ткани и метаболическую дисфункцию при СПКЯ, но и на состав КМ, является образ жизни, включая характер диеты и физическую активность. Рекомендации по его модификации составляют важную часть терапии СПКЯ, хотя оценка ее эффективности затруднена в связи с многочисленностью вариантов диет и сложностью контроля приверженности пациенток к ним, в связи с чем в данном исследовании оценка ее влияния отдельно не проводилось. Тем не менее, имеются данные, указывающие на то, что здоровый рацион питания, с высоким содержанием растительной пищи, поддерживает благоприятные профили микробиома с более высоким содержанием видов, способных к ферментации углеводов, а физическая активность может оказывать независимое влияние на состав и метаболическую активность микробных сообществ кишечника, приводя к

общему увеличению биоразнообразия, увеличению числа бактерий, синтезирующих КЖК, утилизирующих лактат, при одновременном снижении потенциальных патобионтов. Некоторые из этих изменений имеют стойкий характер, не зависят от возраста, веса, потребления пищи [3]. Все это позволяет предположить, что рекомендации по модификации образа жизни могут привести к снижению массы тела, дополнительному улучшению метаболических, репродуктивных и микробиологических параметров у пациенток с ожидаемо низким эффектом от терапии метформином.

## ВЫВОДЫ

1. При СПКЯ каждая вторая пациентка с ИМТ < 25 кг/м<sup>2</sup> имеет неблагоприятный метаболический профиль, характеризующийся избытком жировой ткани, локализованной преимущественно в висцеральной области, который в каждом третьем случае ассоциирован с инсулинорезистентностью, гиперинсулинемией, дислипидемией, в каждом пятом – с нарушением толерантности к глюкозе.

2. У всех пациенток с ИМТ ≥ 23 кг/м<sup>2</sup> имеется избыток жировой ткани, в половине случаев сочетающийся с наличием гиперинсулинемии и инсулинорезистентности, а в 22% случаев – с нарушением толерантности к глюкозе.

3. Для пациенток с СПКЯ характерны признаки хронического субклинического воспаления в виде повышения уровня СРБ и/или IL-6 в каждом третьем случае и усугубляющегося наличием избытка жировой ткани и особенно ожирения.

4. У пациенток с СПКЯ имеются нарушения стабильности состава кишечной микробиоты в виде снижения видового богатства, усугубляющегося избытком жировой ткани, о чем свидетельствует снижение индекса Маргалефа.

5. В видовом составе кишечной микробиоты при СПКЯ наблюдается увеличение численности УПМ (*Clostridium perfringens* gr, *Thomasclavelia ramosa* и *Staphylococcus aureus*), ассоциированное с хроническим субклиническим

воспалением, избытком жировой ткани и формированием инсулинорезистентности, на фоне снижения колонизационных показателей *Clostridium leptum* gr. (включая *F. prausnitzii*), симбионтных видов *Bacteroides* spp. и ряда других бактерий, продуцирующих КЖК и поддерживающих колонизационную резистентность кишечника.

6. Шестимесячный курс терапии метформином приводит к восстановлению ритма менструаций у 54,4% пациенток на фоне улучшения эндокринно-метаболических параметров, маркеров хронического воспаления и коррекции состава кишечной микробиоты: снижения колонизационных показателей условных патогенов *Clostridium perfringens*, *Clostridioides difficile* и *Stapylococcus* spp. в сочетании с повышением симбионта *Akkermansia muciniphila*.

7. Трехмесячный курс комбинированной терапии метформином и пробиотиком (на основе молочнокислых бактерий и *Bifidobacterium* spp.), в отличие от монотерапии не оказывает дополнительного положительного эффекта на уровень андрогенов, метаболический профиль и состав КМ.

8. Исходный уровень АМГ 12,7 нг/мл и менее и увеличение численности группы *Clostridium leptum* в составе кишечной микробиоты  $>9$  lg (ГЭ/г) можно рассматривать в качестве предиктора эффективности терапии метформином (AUC=0,812, чувствительность 66,7 и специфичность 84,2).

## ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Пациенткам с СПКЯ репродуктивного возраста, независимо от ИМТ, целесообразно проводить оценку композиционного состава тела методом двухэнергетической рентгеновской абсорбциометрии с целью диагностики избытка жировой ткани и характера ее распределения, а также определения количества висцеральной жировой ткани.

2. При отсутствии возможности проведения оценки композиционного состава тела, ИМТ  $\geq 23$  кг/м<sup>2</sup> может служить маркером избытка жировой ткани и высокого риска развития метаболических нарушений (инсулинорезистентность, гиперинсулинемия, нарушение толерантности к глюкозе, дислипидемия).

3. Высокая частота метаболической дисфункции у пациенток с СПКЯ при нормальном ИМТ подтверждает необходимость проведения перорального глюкозотолерантного теста, оценки липидного спектра крови, а также модификации образа жизни, направленной на нормализацию параметров композиционного состава тела и профилактику набора веса.

4. Учитывая высокую вероятность дисбаланса микробных сообществ кишечника, трудоемкость метода культуромики, пациенткам с СПКЯ целесообразно проводить исследование кишечной микробиоты методом ПЦР в реальном времени ввиду его доступности и высокой информативности. При этом, особое внимание следует уделять представленности бактерий *Clostridium leptum* gr. и *Akkermansia muciniphila*, ассоциированных со снижением риска инсулинорезистентности.

5. При СПКЯ, независимо от массы тела, с целью коррекции эндокринно-метаболических нарушений целесообразно проведение терапии метформином. На фоне 6-ти месячного курса метформина (1500 мг/сут) регуляцию ритма менструаций можно ожидать у каждой 2-й пациентки без дополнительного назначения прогестагенов.

6. При исходном значении  $AMГ \leq 12,7$  нг/мл и высоком уровне колонизации кишечника симбионтными микроорганизмами группы *Clostridium leptum* ( $>9$  Lg ГЭ/г) можно ожидать более высокую эффективность терапии метформином.

7. Трехмесячный курс терапии метформином и пробиотиком не имеет преимуществ в сравнении с монотерапией метформином для коррекции эндокринно-метаболических параметров и нарушений кишечной микробиоты.

## СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

AMГ – антимюллеров гормон

A – андростендион

ВЖТ – висцеральная жировая ткань

ВЗК – воспалительные заболевания кишечника

ВРТ – вспомогательные репродуктивные технологии  
ГА – гиперандрогения  
ГИ – гиперинсулинемия  
ГТТ – глюкозотолерантный тест  
ГЭ – геном-эквивалент  
ДЛП – дислипидемия  
ЖКТ – желудочно-кишечный тракт  
ИМТ – индекс массы тела  
ИР – инсулинорезистентность  
КА – коэффициент атерогенности  
КЖК – короткоцепочечные жирные кислоты  
КМ – кишечная микробиота  
КОК – комбинированные оральные контрацептивы  
ЛГ – лютеинизирующий гормон  
ЛПВП – липопротеины высокой плотности  
ЛПНП – липопротеины низкой плотности  
ЛПС – липополисахарид  
МС – метаболический синдром  
НТГ – нарушение толерантности к глюкозе  
ОЖТ – общая жировая ткань  
ПГТТ – пероральный глюкозотолерантный тест  
ПКЯ – поликистозные яичники  
ПССГ – половые стероиды связывающий глобулин  
СД – сахарный диабет  
СПКЯ – синдром поликистозных яичников  
СРБ – С-реактивный белок  
ССЗ – сердечно-сосудистые заболевания  
ТГ – триглицериды  
ТКМ – трансплантация кишечной микробиоты  
Тобщ – тестостерон общий

Тсв – тестостерон свободный

ТТГ – тиреотропный гормон

УЗИ – ультразвуковое исследование

УПМ – условно-патогенные микроорганизмы

TNF- $\alpha$  – фактор некроза опухоли- $\alpha$

ФСГ – фолликулостимулирующий гормон

ХАИТ – хронический аутоиммунный тиреоидит

ХС – холестерин

ХСВ – хроническое субклиническое воспаление

IL-1 – интерлейкин-1

IL-6 – интерлейкин-6

17-ОП – 17-ОН-прогестерон

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Бондаренко В.М. Микробиологическая диагностика дисбактериоза кишечника / В. М. Бондаренко. - 2007. - С. 1–86.
2. Микробиота и болезни человека: возможности диетической коррекции / Ю. С. Карпеева [и др.]. // Рос вестник перинатологии и педиатрии. - 2020. N 65. - С. 116–125.
3. Малаева, Е.Г Возможности и перспективы модификации кишечного микробиома / Е. Г. Малаева, И. О. Стома // Архив внутренней медицины. - 2022. - № 5 (12). - С. 341–351.
4. Предикторы эффективности метформина при синдроме поликистозных яичников / А. А. Найдуква [и др.] // Акушерство и гинекология. - 2017. – N 11. - С. 69–76.
5. Никонов, Е.Л. Микробиота: Монография. / Е. Л. Никонов, Е. Н. Попова. - М., 2019. - 256 С.
6. Стома, И.О. Микробиом человека / И. О. Стома / Под ред. К. И. А. Стома И.О. - Минск: Доктор Дизайн, 2018. - 122 С.

7. Чернуха, Г.Е. СПКЯ: кардиоваскулярные риски и влияние на них терапии сиофором/ Г. Е. Чернуха. И. В. Блинова // Трудный пациент. - 2008. - № 1 (6). - С. 18–22.
8. The Role of Chronic Inflammation in Polycystic Ovarian Syndrome—A Systematic Review and Meta-Analysis / S. Aboeldalyl [et al.] // International Journal of Molecular Sciences. - 2021. - № 5 (22). – P. 2734.
9. Probiotic supplementation and the effects on weight loss, glycaemia and lipid profiles in women with polycystic ovary syndrome: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial / S. Ahmadi [et al.] // Human Fertility. - 2017. - № 4 (20). - P. 254–261.
10. Ahmed, B. Adipose tissue and insulin resistance in obese / B. Ahmed, R. Sultana, M. W. Greene // Biomedicine & pharmacotherapy = Biomedecine & pharmacotherapie. - 2021. - N137. - P. 111315.
11. Acid Isolated from Lactobacillus plantarum Maintains Inflammatory Homeostasis through Regulation of Th1- and Th2- Induced Cytokines / J. E. Ahn, H. Kim, D. K. ChungLipoteichoic // Journal of Microbiology and Biotechnology. - 2019. - № 1 (29). - P. 151–159.
12. Altemimi. M. T. The Performance of Glycated Hemoglobin Versus Oral Glucose Tolerance Test in the Diagnosis of Glycemic Disorders Among Women With Polycystic Ovary Syndrome in Southern Iraq / M. T. Altemimi, A. K. Musa. A. A. Mansour // Journal of the Endocrine Society. -2021. - № Supplement 1 (5). - P. A437–A437.
13. The relationship between gut microbiota and susceptibility to type 2 diabetes mellitus in rats /Y. An [et al.] // Chinese Medicine. - 2023. - № 1 (18). - С. 49.
14. Effects of Lactobacillus acidophilus NCFM on insulin sensitivity and the systemic inflammatory response in human subjects / A. S. Andreasen [et al.] // The British journal of nutrition. - 2010. - № 12 (104). - P. 1831–1838.
15. Monitoring bacterial community of human gut microbiota reveals an increase in Lactobacillus in obese patients and Methanogens in anorexic patients / F. Armougom [et al.] // PloS one. -2009. - № 9 (4). - P. e7125.
16. Effects of probiotic supplementation on pancreatic  $\beta$ -cell function and c-reactive protein in women with polycystic ovary syndrome: A randomized double-blind placebo-

- controlled clinical trial / G. Askari [et al.] // International Journal of Preventive Medicine. -2015. - № 1 (6). - C. 27.
17. Source and amount of carbohydrate in the diet and inflammation in women with polycystic ovary syndrome. / L. Barrea [et al.] // Nutrition research reviews. - 2018. - № 2 (31). - P. 291–301.
18. Betancur-Murillo C. L., Aguilar-Marín S. B., Jovel J. Prevotella: A Key Player in Ruminant Metabolism. // Microorganisms. 2022. № 1 (11).
19. Bharath, L. P. The intersection of metformin and inflammation / L. P. Bharath, B. S. Nikolajczyk // American journal of physiology. Cell physiology. - 2021. - № 5 (320). - P. P 873–P 879.
20. Short chain fatty acids in human gut and metabolic health / E. E. Blaak [et al.] // Beneficial microbes. - 2020. - № 5 (11). - P. 411–455.
21. Borst, S. E. The Role of TNF- $\alpha$  in Insulin Resistance / S. E. Borst // Endocrine. - 2004. - № 2–3 (23). - P. 177–182.
22. Past and present: a bibliometric study on polycystic ovary syndrome/ M. Cai [et al.] // Journal of Ovarian Research. - 2023. - № 1 (16). - P. 42.
23. European consensus conference on faecal microbiota transplantation in clinical practice / G. Cammarota [et al.] // Gut. - 2017. - № 4 (66). - C. 569–580.
24. Abdominal Fat Quantity and Distribution in Women with Polycystic Ovary Syndrome and Extent of Its Relation to Insulin Resistance / E. Carmina [et al.] // The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism. - 2007. - № 7 (92). - P. 2500–2505.
25. Richness of human gut microbiome correlates with metabolic markers / E. Le. Chatelier [et al.] // Nature. - 2013. - № 7464 (500). - p. 541–546.
26. Chen Fangyuan, LAI Zhiwen, XU Zusen Analysis of the gut microbial composition in polycystic ovary syndrome with acne // Zigong Maternal and Child Health Hospital. - 2019. – Vol.35, № 14. - P. 2246–2251.
27. Association of Insulin Resistance and Type 2 Diabetes With Gut Microbial Diversity: A Microbiome-Wide Analysis From Population Studies / Z. Chen [et al.] // JAMA network open. - 2021. - № 7 (4). - P. e2118811.

28. A Critical Perspective on the Supplementation of *Akkermansia muciniphila*: Benefits and Harms / V. Chiantera [et al.] // *Life*. - 2023. - № 6 (13). - P. 1247.
29. The estimation of cardiovascular risk factors by body mass index and body fat percentage in Korean male adults / Y. G. Cho [et al.] // *Metabolism: clinical and experimental*. - 2009. - № 6 (58). - P. 765–771.
30. Serum asymmetric dimethylarginine, apelin, and tumor necrosis factor- $\alpha$  levels in non-obese women with polycystic ovary syndrome / Y. S. Choi [et al.]. // *Steroids*. - 2012. - № 13 (77). - P. 1352–1358.
31. The impact of short-chain fatty acids on GLP-1 and PYY secretion from the isolated perfused rat colon / C. B. Christiansen [ et al.] // *American journal of physiology. Gastrointestinal and liver physiology*. -2018. - № 1 (315). - P. G53–G65.
32. Normal-Weight Obesity Is Associated with Increased Cardiometabolic Risk in Young Adults / M. Correa-Rodríguez [ et al.] // *Nutrients*. -2020. - № 4 (12).
33. Characterization of mucosa-associated *Escherichia coli* strains isolated from Crohn's disease patients in Brazil / R. F. A. Costa [et al.] // *BMC Microbiology*. - 2020. - № 1 (20). - P. 178.
34. Increased intestinal permeability as a risk factor for type 2 diabetes / A. J. Cox [et al.] // *Diabetes & Metabolism*. -2017. - № 2 (43). - P. 163–166.
35. Cunningham, A. L. Gut microbiota influence in type 2 diabetes mellitus (T2DM) / A. L. Cunningham, J.W. Stephens, D. A. Harris // *Gut pathogens*. -2021. - № 1 (13). - P. 50.
36. Distinct subtypes of polycystic ovary syndrome with novel genetic associations: An unsupervised, phenotypic clustering analysis / M. Dapas [et al.] // *PLoS medicine*. - 2020. - № 6 (17). - P. e1003132.
37. *Akkermansia muciniphila* gen. nov., sp. nov., a human intestinal mucin-degrading bacterium / M. Derrien [et al.] // *International journal of systematic and evolutionary microbiology*. - 2004. - № Pt 5 (54). - P. 1469–1476.
38. Dickey, R. A. [et al.] AACE/ACE POSITION STATEMENT ON THE PREVENTION, DIAGNOSIS, AND TREATMENT OF OBESITY (1998 Revision) AACE/ACE Obesity Task Force. 1998.

39. Ding, C. Lean, but not healthy / C. Ding, Z. Chan, F. Magkos // *Current Opinion in Clinical Nutrition & Metabolic Care*. - 2016. - № 6 (19). - P. 408–417.
40. BMI does not accurately predict overweight in Asian Indians in northern India / V. Dudeja [et al.] // *British Journal of Nutrition*. - 2001. - № 1 (86). - P. 105–112.
41. Durmus, U. Visceral adiposity index levels in overweight and/or obese, and non-obese patients with polycystic ovary syndrome and its relationship with metabolic and inflammatory parameters / U. Durmus, C. Duran, S. Ecirl // *Journal of endocrinological investigation*. - 2017. - № 5 (40). - P. 487–497.
42. TLR4 activation induces IL-1 $\beta$  release via an IPAF dependent but caspase 1/11/8 independent pathway in the lung / S. Eltom [et al.] // *Respiratory research*. - 2014. - № 1 (15). - P. 87.
43. TNF-alpha and hyperandrogenism: a clinical, biochemical, and molecular genetic study / H. F. Escobar-Morreale [et al.] // *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*. - 2001. - № 8 (86). - P. 3761–3767.
44. Escobar-Morreale, H. F. Reproductive endocrinology: Menstrual dysfunction--a proxy for insulin resistance in PCOS? / H. F. Escobar-Morreale // *Nature reviews. Endocrinology*. -2014. - № 1 (10). - P. 10–111.
45. Escobar-Morreale, H. F. Polycystic ovary syndrome: definition, aetiology, diagnosis and treatment / H. F. Escobar-Morreale // *Nature reviews. Endocrinology*. - 2018. - № 5 (14). - P. 270–284.
46. Escobar-Morreale, H. F. Circulating inflammatory markers in polycystic ovary syndrome: a systematic review and metaanalysis / H. F. Escobar-Morreale, M. Luque-Ramírez, F. González // *Fertility and Sterility*. - 2011. - № 3 (95). - P. 1048-1058.e2.
47. Escobar-Morreale, H. Circulating inflammatory markers in polycystic ovary syndrome: a systematic review and metaanalysis / H. F. Escobar-Morreale, M. Luque-Ramírez, F. González // *Fertility and sterility*. - 2011. - № 3 (95). - P. 1048-58. e1–2.
48. Esteve, E. Gut microbiota interactions with obesity, insulin resistance and type 2 diabetes: did gut microbiote co-evolve with insulin resistance? / E. Esteve W. Ricart, J. – M. Fernández-Real // *Current opinion in clinical nutrition and metabolic care*. - 2011. - № 5 (14). - P. 483–490.

- 49 Association of fat to lean mass ratio with metabolic dysfunction in women with polycystic ovary syndrome / U. Ezech [et al.] // *Human reproduction* (Oxford, England). - 2014. - № 7 (29). - P. 1508–1517.
50. Faecal levels of Bifidobacterium and Clostridium coccoides but not plasma lipopolysaccharide are inversely related to insulin and HOMA index in women. / F S Teixeira T. [et al.] // *Clinical nutrition* (Edinburgh, Scotland). - 2013. - № 6 (32). - P. 1017–1022.
51. Body composition, fat distribution and metabolic characteristics in lean and obese women with polycystic ovary syndrome / E. Faloiu [et al.] // *Journal of Endocrinological Investigation*. - 2004. - № 5 (27). - P. 424–429.
52. National Health and Nutrition Examination Survey Whole-Body Dual-Energy X-Ray Absorptiometry Reference Data for GE Lunar Systems/ B. Fan [ et al.] // *Journal of Clinical Densitometry*. - 2014. - № 3 (17). - P. 344–377.
53. Gut microbiome stability and resilience: elucidating the response to perturbations in order to modulate gut health / M. Fassarella [et al.] // *Gut*. -2021. - № 3 (70). - P. 595–605.
54. Consensus on women’s health aspects of polycystic ovary syndrome (PCOS): the Amsterdam ESHRE/ASRM-Sponsored 3rd PCOS Consensus Workshop Group / B. C.J. M. Fauser [et al.] // *Fertility and sterility*. - 2012. - № 1 (97). - P. 28-38. e25.
55. The Central Role of the Gut Microbiota in Chronic Inflammatory/ C. M. Diseases Ferreira [et al] // *Journal of Immunology Research*. - 2014. - (2014). - P. 1–12.
56. Flint, H. J. Obesity and the gut microbiota / H. J. Flint // *Journal of clinical gastroenterology*. - 2011. - (45 Suppl). - P. S128-132.
57. Disentangling type 2 diabetes and metformin treatment signatures in the human gut microbiota. // *Nature*. -2015. - № 7581 (528). - P. 262–266.
58. Antibiotic effects on gut microbiota and metabolism are host dependent / K. Forslund [et al.] // *The Journal of clinical investigation*. - 2016. - № 12 (126). - P. 4430–4443.
59. Il-6 Serum Levels and Production Is Related to an Altered Immune Response in Polycystic Ovary Syndrome Girls with Insulin Resistance / A. M. Fulghesu [et al.] // *Mediators of Inflammation*. -2011. - (2011). - P. 1–8.

60. Differential Adaptation of Human Gut Microbiota to Bariatric Surgery–Induced Weight Loss/ L. –P. Furet [et al.] // *Diabetes*. - 2010. - № 12 (59). - P. 3049–3057.
61. Metagenomics study on taxonomic and functional change of gut microbiota in patients with obesity with PCOS treated with exenatide combination with metformin or metformin alone / J. Gan [et al.] // *Gynecological endocrinology: the official journal of the International Society of Gynecological Endocrinology*. - 2023. - № 1 (39). - P. 2219342.
62. Dysbiosis Signatures of Gut Microbiota Along the Sequence from Healthy, Young Patients to Those with Overweight and Obesity / R. Gao [et al.] // *Obesity (Silver Spring, Md.)*. - 2018. - № 2 (26). - P. 351–361.
63. Toll-like receptor-4 signaling mediates inflammation and tissue injury in diabetic nephropathy/ G. Garibotto [et al.] // *Journal of Nephrology*. - 2017. - № 6 (30). - P. 719–727.
64. American association of clinical endocrinologists and american college of endocrinology position statement on the 2014 advanced framework for a new diagnosis of obesity as a chronic disease / W. T. Garvey [et al.] // *Endocrine practice: official journal of the American College of Endocrinology and the American Association of Clinical Endocrinologists*. - 2014. - № 9 (20). - P. 977–989.
65. Reconsidering the Polycystic Ovary Syndrome (PCOS) / N. Gleicher [et al.]. // *Biomedicines*. - 2022. - № 7 (10). - P. 1505.
66. Glueck, C. J. Characteristics of obesity in polycystic ovary syndrome: Etiology, treatment, and genetics / C. J. Glueck, N. Goldenberg // *Metabolism: clinical and experimental*. - 2019. –N 92. - P. 108–120.
67. Are BMI and other anthropometric measures appropriate as indices for obesity? A study in an Asian population / V. H.H. Goh [et al.] // *Journal of Lipid Research*. -2004. -№ 10 (45). - P. 1892–1898.
68. The abundance of bifidobacterium in relation to visceral obesity and serum uric acid / H. Gong [ et al.] // *Scientific Reports*. - 2022. - № 1 (12). - P. 13073.
69. Gut Microbiota Characteristics of People with Obesity by Meta-Analysis of Existing Datasets / J. Gong [et al.] // *Nutrients*. - 2022. - № 14 (14).

70. Chronic inflammation in polycystic ovary syndrome: A case–control study using multiple markers / S. Goswami [et al.] // International Journal of Reproductive BioMedicine (IJRM). - 2021.
71. Lipopolysaccharide Regulation of Intestinal Tight Junction Permeability Is Mediated by TLR4 Signal Transduction Pathway Activation of FAK and MyD88 / S. Guo [et al.] // The Journal of Immunology. - 2015. - № 10 (195). - P. 4999–5010.
72. Gupta, V. K. Geography, Ethnicity or Subsistence-Specific Variations in Human Microbiome Composition and Diversity / V. K. Gupta, S. Paul, C. Dutta // Frontiers in microbiology. - 2017. – N 8. - P. 1162.
73. Role of gut microbiota in type 2 diabetes pathophysiology / M. Gurung [et al.] // EBioMedicine. - 2020. - N51. – P. 102590.
74. Differential diagnosis of various forms of functional hypothalamic amenorrhea / D. V. Gusev [et al.] // Gynecology. - 2019. - № 4 (21). - P. 14–18.
75. The Effects of Probiotics or Synbiotics Supplementation in Women with Polycystic Ovarian Syndrome: a Systematic Review and Meta-Analysis of Randomized Clinical Trials / J. Heshmati [et al.] // Probiotics and antimicrobial proteins. - 2019. - № 4 (11). - P. 1236–1247.
76. Metformin inhibits human androgen production by regulating steroidogenic enzymes HSD3B2 and CYP17A1 and complex I activity of the respiratory chain / A. Hirsch [et al.] // Endocrinology. - 2012. - № 9 (153). - P. 4354–66.
77. Gut microbiota is correlated with gastrointestinal adverse events of metformin in patients with type 2 diabetes / Y. Huang [et al.] // Frontiers in endocrinology. - 2022. N 13. - P. 1044030.
78. A comprehensive repertoire of prokaryotic species identified in human beings / P. Hugon [et al.] // The Lancet. Infectious diseases. - 2015. - № 10 (15). - P. 1211–1219.
79. Human Microbiome Project Consortium Structure, function and diversity of the healthy human microbiome // Nature. -2012. - № 7402 (486). - P. 207–214.
80. Gut Microbiota and the Polycystic Ovary Syndrome: Influence of Sex, Sex Hormones, and Obesity / M. Insenser [et al.] // The Journal of clinical endocrinology and metabolism. - 2018. - № 7 (103). - P. 2552–2562.

81. Clostridium leptum group bacteria abundance and diversity in the fecal microbiota of patients with inflammatory bowel disease: a case–control study in India / J. Kabeerdoss [et al.] // BMC Gastroenterology. - 2013. - № 1 (13). - P. 20.
82. A Novel Letrozole Model Recapitulates Both the Reproductive and Metabolic Phenotypes of Polycystic Ovary Syndrome in Female Mice / A. S. Kauffman [et al.] // Biology of Reproduction. - 2015. - № 3 (93).
83. The Gut Microbiome Is Altered in a Letrozole-Induced Mouse Model of Polycystic Ovary Syndrome / S. T. Kelley [et al.] // PloS one. - 2016. - № 1 (11). - P. e0146509.
84. Low Grade Chronic Inflammation in Women with Polycystic Ovarian Syndrome / C. C.J. Kelly [et al.] // The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism. - 2001. - № 6 (86). - P. 2453–2455.
85. Kim, J. Y. Implication of high-body-fat percentage on cardiometabolic risk in middle-aged, healthy, normal-weight adults / J. Y. Kim, S. –H. Han, B. –M. Yang // Obesity. - 2013. - № 8 (21). - P. 1571–1577.
86. Kirchengast, S. Body composition characteristics and fat distribution patterns in young infertile women / S. Kirchengast, J. Huber // Fertility and Sterility. - 2004. - № 3 (81). - P. 539–544.
87. Interleukin-1 alpha but not interleukin-1 beta gene polymorphism is associated with polycystic ovary syndrome / A. Kolbus [et al.] // Journal of reproductive immunology. - 2007. - № 2 (73). - P. 188–193.
88. Konturek S. J. [et al.] Brain-gut axis and its role in the control of food intake. // Journal of physiology and pharmacology: an official journal of the Polish Physiological Society. - 2004. - № 1 Pt 2 (55). - P. 137–154.
89. Maintaining remission of ulcerative colitis with the probiotic Escherichia coli Nissle 1917 is as effective as with standard mesalazine / W. Kruis [et al.] // Gut. - 2004. - № 11 (53). - P. 1617–1623.
90. Nutritional Aspects of Depression / U. E. Lang [et al.] // Cellular Physiology and Biochemistry. - 2015. - № 3 (37). - P. 1029–1043.

91. Overfeeding increases postprandial endotoxemia in men: Inflammatory outcome may depend on LPS transporters LBP and sCD14 / F. Laugerette [et al.] // *Molecular Nutrition & Food Research*. - 2014. - № 7 (58). - P. 1513–1518.
92. An integrated catalog of reference genes in the human gut microbiome / J. Li [et al.] // *Nature biotechnology*. - 2014. - № 8 (32). - P. 834–841.
93. Gut microbiota-derived butyrate regulates gut mucus barrier repair by activating the macrophage/WNT/ERK signaling pathway / L. Liang [et al.] // *Clinical science (London, England 1979)*. - 2022. - № 4 (136). - P. 291–307.
94. Meta-analysis of the effects of probiotic supplementation on glycemia, lipidic profiles, weight loss and C-reactive protein in women with polycystic ovarian syndrome / D. Liao [et al.] // *Minerva medica*. - 2018. - № 6 (109). - P. 479–487.
95. The effect of heritability and host genetics on the gut microbiota and metabolic syndrome / M. Y. Lim [et al.] // *Gut*. - 2017. - № 6 (66). - P. 1031–1038.
96. Overweight, obesity and central obesity in women with polycystic ovary syndrome: a systematic review and meta-analysis / S. S. Lim [et al.] // *Human Reproduction Update*. - 2012. - № 6 (18). - P. 618–637.
97. Interleukin-6 as an Early Chronic Inflammatory Marker in Polycystic Ovary Syndrome with Insulin Receptor Substrate-2 Polymorphism / Y.- S. Lin [et al.] // *American Journal of Reproductive Immunology*. - 2011. - № 6 (66). - P. 527–533.
98. Alterations in Gut Microbiome Composition and Barrier Function Are Associated with Reproductive and Metabolic Defects in Women with Polycystic Ovary Syndrome (PCOS): A Pilot Study / L. Lindheim [et al.] // *PloS one*. - 2017. - № 1 (12). - P. e0168390.
99. Roles of chronic low-grade inflammation in the development of ectopic fat deposition / L. Liu [et al.] // *Mediators of inflammation*. - 2014. - P. 418185.
100. The role of short-chain fatty acids in intestinal barrier function, inflammation, oxidative stress, and colonic carcinogenesis / P. Liu [et al.] // *Pharmacological Research*. - 2021. - N165. –P. 105420.
101. Dysbiosis of Gut Microbiota Associated with Clinical Parameters in Polycystic Ovary Syndrome / R. Liu [et al.] // *Frontiers in microbiology*. - 2017. – N 8. - P. 324.

102. Lloyd-Price, J. The healthy human microbiome / J. Lloyd-Price, G. Abu-Ali, C. Huttenhower // *Genome medicine*. - 2016. - № 1 (8). - P. 51.
103. Meta-analyses of studies of the human microbiota/ C. A. Lozupone [et al.] // *Genome Research*. - 2013. - № 10 (23). - P. 1704–1714.
104. Luca, C. de Inflammation and insulin resistance/ C. Luca de, J. M. Olefsky // *FEBS Letters*. - 2008. - № 1 (582). - P. 97–105.
105. Macfarlane, G. T. Human colonic microbiota: ecology, physiology and metabolic potential of intestinal bacteria / G. T. Macfarlane, S. Macfarlane // *Scandinavian journal of gastroenterology*. 1997. – Supplement N 222. – P. 3–9.
106. Bacteroides fragilis-derived lipopolysaccharide produces cell activation and lethal toxicity via toll-like receptor 4 / G. Mancuso [et al.] // *Infection and immunity*. -2005. - № 9 (73). - P. 5620–5627.
107. Clostridium ramosum regulates enterochromaffin cell development and serotonin release / A. D. Mandić [et al.] // *Scientific Reports*. - 2019. - № 1 (9). - P. 1177.
108. Metformin has direct effects on human ovarian steroidogenesis / R. Mansfield [et al.] // *Fertility and sterility*. - 2003. - № 4 (79). - P. 956–962.
109. The prevalence of polycystic ovary syndrome in a community sample assessed under contrasting diagnostic criteria / W. A. March [et al.] // *Human reproduction (Oxford, England)*. - 2010. - № 2 (25). - P. 544–551.
110. Butyrate reduces high-fat diet-induced metabolic alterations, hepatic steatosis and pancreatic beta cell and intestinal barrier dysfunctions in prediabetic mice / V. A. Matheus [et al.] // *Experimental biology and medicine (Maywood, N.J.)*. - 2017. - № 12 (242). - P. 1214–1226.
111. Effects of combined treatment of probiotics and metformin in management of type 2 diabetes: A systematic review and meta-analysis / H. Memon [et al.] // *Diabetes research and clinical practice*. - 2023. – N 202. - P. 110806.
112. The associations between cardiometabolic risk factors and visceral fat measured by a new dual-energy X-ray absorptiometry-derived method in lean healthy Caucasian women / T. Miazgowski [et al.] // *Endocrine*. - 2014. - № 2 (47). - P. 500–505.

113. Divergences in insulin resistance between the different phenotypes of the polycystic ovary syndrome / P. Moghetti [et al.] // *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*. - 2013. - № 4 (98). - P. E628-637.
114. Moghetti, P. Insulin resistance and PCOS: chicken or egg? / P. Moghetti., F. Tosi // *Journal of endocrinological investigation*. - 2021. - № 2 (44). - P. 233–244.
115. Impaired glucose tolerance, type 2 diabetes and metabolic syndrome in polycystic ovary syndrome: a systematic review and meta-analysis/ L. J. Moran [et al.] // *Human reproduction update*. - 2010. - № 4 (16). - P. 347–363.
116. Evaluation of adverse outcome in young women with polycystic ovary syndrome versus matched, reference controls: a retrospective, observational study / C. L. Morgan [et al.] // *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*. - 2012. - № 9 (97). - P. 3251–3260.
117. Mshvildadze, M. The infant intestinal microbiome: friend or foe? / M. Mshvildadze, J. Neu // *Early human development*. - 2010. - № Suppl. 1 (86 Suppl. 1). - P. 67–71.
118. The Effects of Probiotics/Synbiotics on Glucose and Lipid Metabolism in Women with Gestational Diabetes Mellitus: A Meta-Analysis of Randomized Controlled Trials / J. Mu [et al.] // *Nutrients*. - 2023. - № 6 (15). - P. 1375.
119. Adipose insulin resistance is associated with cardiovascular risk factors in polycystic ovary syndrome/ L. Mu [et al.] // *Journal of Endocrinological Investigation*. - 2019. - № 5 (42). - P. 541–548.
120. The infant microbiome development: mom matters / N. T. Mueller [et al.] // *Trends in molecular medicine*. - 2015. - № 2 (21). - P. 109–117.
121. Mumusoglu, S. Polycystic ovary syndrome phenotypes and prevalence: Differential impact of diagnostic criteria and clinical versus unselected population / S. Mumusoglu, B. O. Yildiz // *Current Opinion in Endocrine and Metabolic Research*. - 2020. - N 12. - P. 66–71.
122. The FIGO Ovulatory Disorders Classification System / M. G. Munro [et al.] // *Fertility and sterility*. - 2022. - № 4 (118). - P. 768–786.

123. The value of anti-Müllerian hormone in the diagnosis of polycystic ovary syndrome / N. A. A. Naidukova [et al.] // *Akusherstvo i ginekologiya*. - 2017. - (1\_2017). - P. 46–52.
124. Neish, A. S. Microbes in gastrointestinal health and disease / A. S. Neish // *Gastroenterology*. - 2009. - № 1 (136). - P. 65–80.
125. A Direct Effect of Hyperinsulinemia on Serum Sex Hormone-Binding Globulin Levels in Obese Women with the Polycystic Ovary Syndrome\* / J. E. NESTLER [et al.] // *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*. -1991. - № 1 (72). - P. 83–89.
126. Lipopolysaccharides-mediated increase in glucose-stimulated insulin secretion: involvement of the GLP-1 pathway / A. T. Nguyen [et al.] // *Diabetes*. -2014. - № 2 (63). - P. 471–482.
127. TLR4-induced NF- $\kappa$ B and MAPK signaling regulate the IL-6 mRNA stabilizing protein Arid5a / K. K. Nyati [et al.] // *Nucleic acids research*. - 2017. - № 5 (45). - P. 2687–2703.
128. Overweight and obese but not normal weight women with PCOS are at increased risk of Type 2 diabetes mellitus-a prospective, population-based cohort study / M. M. Ollila [et al.] // *Human reproduction (Oxford, England)*. - 2017. - № 2 (32). - P. 423–431.
129. Intestinal dysbiosis in preterm infants preceding necrotizing enterocolitis: a systematic review and meta-analysis /M. Pammi [et al.] // *Microbiome*. -2017. - № 1 (5). - P. 31.
130. Parker, J. A narrative review of the role of gastrointestinal dysbiosis in the pathogenesis of polycystic ovary syndrome / J. Parker, C. O'Brien, J. Hawrelak // *Obstetrics & gynecology science*. - 2022. - № 1 (65). - P. 14–28.
131. Metformin improves glucose effectiveness, not insulin sensitivity: predicting treatment response in women with polycystic ovary syndrome in an open-label, interventional study / C. T. Pau [et al.] // *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*. - 2014. - № 5 (99). - P. 1870–1878.

132. Butyrate inhibits IL-1 $\beta$ -induced inflammatory gene expression by suppression of NF- $\kappa$ B activity in pancreatic beta cells / S. S. Pedersen [et al.] // *The Journal of biological chemistry*. - 2022. - № 9 (298). - P. 102312.
133. Gut Microbiome Composition in Obese and Non-Obese Persons: A Systematic Review and Meta-Analysis /M. Pinart [et al.] // *Nutrients*. - 2021. - № 1 (14). - P. 12.
134. Fecal microbiota transplantation improves metabolic syndrome parameters: systematic review with meta-analysis based on randomized clinical trials. / I. M. Proença [et al.] // *Nutrition research (New York, N.Y.)*. - 2020. – N 83.- P. 1–14.
135. Central Fat Excess in Polycystic Ovary Syndrome: Relation to Low-Grade Inflammation and Insulin Resistance / J. J. Puder [et al.] // *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*. - 2005. - № 11 (90). - P. 6014–6021.
136. Gut microbiota-bile acid-interleukin-22 axis orchestrates polycystic ovary syndrome / X. Qi [et al.] // *Nature medicine*. - 2019. - № 8 (25). - P. 1225–1233.
137. A metagenome-wide association study of gut microbiota in type 2 diabetes. / J. Qin [et al.] // *Nature*. - 2012. - № 7418 (490). - P. 55–60.
138. Quigley, E. M. M. Basic Definitions and Concepts: Organization of the Gut Microbiome / E. M.M. Quigley // *Gastroenterology Clinics of North America*. - 2017. - № 1 (46). - P. 1–8.
139. Quigley, E. M. M. Recent advances in modulating the microbiome / E. M.M. Quigley, P. Gajula // *F1000Research*. - 2020. - N9. - P. 46.
140. The anti-inflammatory effects of *Akkermansia muciniphila* and its derivatives in HFD/CCL4-induced murine model of liver injury / S. K.A. Raftar [et al.] // *Scientific Reports*. - 2022. - № 1 (12). - P. 2453.
141. Ramamoorthy, S., K B. A Cross Sectional Study on the Status of Inflammatory Markers in Polycystic Ovary Syndrome (Pcos) in Indian Population / S. K.B. Ramamoorthy // *Biomedical and Pharmacology Journal*. - 2019. - № 04 (12). - P. 1975–1983.
142. Rena, G. The mechanisms of action of metformin /G. Rena, D. G. Hardie, E. R.Pearson // *Diabetologia*. - 2017. - № 9 (60). - P. 1577–1585.

143. Antibiotic exposure by 6 months and asthma and allergy at 6 years: Findings in a cohort of 1,401 US children / K. R. Risnes [et al.] // *American journal of epidemiology*. - 2011. - № 3 (173). - P. 310–318.
144. Polycystic Ovary Syndrome, Insulin Resistance, and Obesity: Navigating the Pathophysiologic Labyrinth / J. Rojas [et al.] // *International Journal of Reproductive Medicine*. - 2014. - P. 1–17.
145. Rotterdam ESHRE/ASRM-Sponsored PCOS consensus workshop group Revised 2003 consensus on diagnostic criteria and long-term health risks related to polycystic ovary syndrome (PCOS) // *Human reproduction (Oxford, England)*. - 2004. - № 1 (19). - P. 41–47.
146. Gut microbiota functions: metabolism of nutrients and other food components / I. Rowland [et al.] // *European Journal of Nutrition*. - 2018. - № 1 (57). - PC. 1–24.
147. Ruderman, N. B. The «metabolically-obese» normal-weight individual / N. B. Ruderman, S. H. Schneider, P. Berchtold // *The American journal of clinical nutrition*. - 1981. - № 8 (34). - P. 1617–1621.
148. Chronic Low Grade Inflammation in Pathogenesis of PCOS / E. Rudnicka [et al.] // *International journal of molecular sciences*. - 2021. - № 7 (22).
149. Samuel, V. T. The pathogenesis of insulin resistance: integrating signaling pathways and substrate flux / V. T. Samuel, G. I. Shulman // *Journal of Clinical Investigation*. - 2016. - № 1 (126). - P. 12–22.
150. Gut microbiota composition is associated with body weight, weight gain and biochemical parameters in pregnant women / A. Santacruz [et al.] // *British Journal of Nutrition*. - 2010. - № 1 (104). - P. 83–92.
151. Sender, R. Revised Estimates for the Number of Human and Bacteria Cells in the Body/ R. Sender, S. Fuchs, R. Milo R. // *PLoS biology*. - 2016. - № 8 (14). - P. e1002533.
152. Role of cesarean section in the development of neonatal gut microbiota: A systematic review / N. Shaterian [et al.] // *Open medicine (Warsaw, Poland)*. - 2021. - № 1 (16). - P. 624–639.
153. Prenatal androgen exposure causes hypertension and gut microbiota dysbiosis / S. B. Sherman [et al.] // *Gut microbes*. - 2018. - № 5 (9). - P. 400–421.

154. An increase in the *Akkermansia* spp. population induced by metformin treatment improves glucose homeostasis in diet-induced obese mice / N. –R. Shin [et al.] // *Gut*. - 2014. - № 5 (63). - P. 727–735.
155. Shoelson, S. E. Inflammation and insulin resistance / S. E. Shoelson // *Journal of Clinical Investigation*. - 2006. - № 7 (116). - P. 1793–1801.
156. Mechanisms of muscle insulin resistance and the cross-talk with liver and adipose tissue / S. C. da Silva Rosa [et al.] // *Physiological reports*. - 2020. - № 19 (8). - P. e14607.
157. Sim, SJ. The Cut-off Values of Body Fat to Identify Cardiovascular Risk Among Korean Adults / SJ. Sim, HS. Park // *J Korean Soc Study Obes*. - 2004. - № 1 (13). - P. 14–21.
158. Butyrate producers, “The Sentinel of Gut”: Their intestinal significance with and beyond butyrate, and prospective use as microbial therapeutics / V. Singh [et al.] // *Frontiers in Microbiology*. - 2023. - N13.
159. Hyperandrogenemia Induced by Letrozole Treatment of Pubertal Female Mice Results in Hyperinsulinemia Prior to Weight Gain and Insulin Resistance / D. V. Skarra [et al.] // *Endocrinology*. - 2017. - № 9 (158). - P. 2988–3003.
160. *Faecalibacterium prausnitzii* is an anti-inflammatory commensal bacterium identified by gut microbiota analysis of Crohn disease patients / H. Sokol [et al.] // *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. - 2008. - № 43 (105). - P. 16731–16736.
161. The microbial pharmacists within us: a metagenomic view of xenobiotic metabolism / P. Spanogiannopoulos [et al.] // *Nature reviews. Microbiology*. - 2016. - № 5 (14). - P. 273–287.
162. Women with polycystic ovary syndrome have intrinsic insulin resistance on euglycaemic-hyperinsulaemic clamp / N. K. Stepto [et al.] // *Human reproduction (Oxford, England)*. - 2013. - № 3 (28). - P. 777–784.
163. Sumner, A. E. Ethnic differences in the ability of triglyceride levels to identify insulin resistance / A. E. Sumner, C. C. Cowie // *Atherosclerosis*. - 2008. - № 2 (196). - P. 696–703.

164. Sze, M. A. Looking for a Signal in the Noise: Revisiting Obesity and the Microbiome / M. A. Sze, P. D. Schloss // *mBio*. -2016. - № 4 (7).
165. Gut Microbiota and Serum Biomarker Analyses in Obese Patients Diagnosed with Diabetes and Hypothyroid Disorder / M. Tabasi [et al.] // *Metabolic syndrome and related disorders*. - 2021. - № 3 (19). - P. 144–151.
166. Prevalence and clinical profile of insulin resistance in young women of polycystic ovary syndrome: A study from Pakistan/ R. Tabassum [et al.] // *Pakistan journal of medical sciences*. - 2013. - № 2 (29). - P. 593–596.
167. The microbiome in early life: implications for health outcomes / S. Tamburini [et al.] // *Nature medicine*. -2016. - № 7 (22). - P. 713–722.
168. Teede, H. Polycystic ovary syndrome: a complex condition with psychological, reproductive and metabolic manifestations that impacts on health across the lifespan / H. Teede, A. Deeks, L. Moran // *BMC medicine*. - 2010. – N 8. - P. 41.
169. Recommendations from the 2023 International Evidence-based Guideline for the Assessment and Management of Polycystic Ovary Syndrome / H. J. Teede [et al.] // *Human Reproduction*. - 2023. - № 9 (38). - P. 1655–1679.
170. Thackray, V. G. Sex, Microbes, and Polycystic Ovary Syndrome / V. G. Thackray // *Trends in Endocrinology & Metabolism*. -2019. - № 1 (30). - P. 54–65.
171. Short-chain fatty acids stimulate glucagon-like peptide-1 secretion via the G-protein-coupled receptor FFAR2 / G. Tolhurst [et al.] // *Diabetes*. -2012. - № 2 (61). - P. 364–371.
172. Gut Microbial Diversity in Women With Polycystic Ovary Syndrome Correlates With Hyperandrogenism /P. J. Torres [et al.] // *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*. - 2018. - № 4 (103). - P. 1502–1511.
173. Tosi, F. Insulin resistance in a large cohort of women with polycystic ovary syndrome: a comparison between euglycaemic-hyperinsulinaemic clamp and surrogate indexes /F. Tosi, E. Bonora, P. Moghetti // *Human reproduction (Oxford, England)*. - 2017. - № 12 (32). - P. 2515–2521.
174. Tremaroli, V. Functional interactions between the gut microbiota and host metabolism / V. Tremaroli, F. Bäckhed // *Nature*. -2012. - № 7415 (489). - P. 242–249.

175. Tremellen, K. Dysbiosis of Gut Microbiota (DOGMA)--a novel theory for the development of Polycystic Ovarian Syndrome / K. Tremellen, K. Pearce // *Medical hypotheses*. - 2012. - № 1 (79). - P. 104–112.
176. Turjeman, S. The gut microbiome in pregnancy and pregnancy complications / S. Turjeman, M. C. Collado, O. Koren // *Current Opinion in Endocrine and Metabolic Research*. - 2021. - N18. - P. 133–138.
177. An obesity-associated gut microbiome with increased capacity for energy harvest / P. J. Turnbaugh [et al.] // *Nature*. - 2006. - № 7122 (444). - P. 1027–1031.
178. Unfer, V.A PCOS Paradox: Does Inositol Therapy Find a Rationale in All the Different Phenotypes? / V. Unfer, S. Dinicola, M. Russo // *International journal of molecular sciences*. - 2023. - № 7 (24).
179. Impaired glucose metabolism in women with polycystic ovary syndrome / J. Vrbikova [et al.] // *Gynecologic and obstetric investigation*. - 2009. - № 3 (68). - P. 186–190.
180. Transfer of Intestinal Microbiota From Lean Donors Increases Insulin Sensitivity in Individuals With Metabolic Syndrome / A. Vrieze [et al.] // *Gastroenterology*. - 2012. - № 4 (143). - P. 913-916.e7.
181. Walters, W. A. Meta-analyses of human gut microbes associated with obesity and IBD/ W. A. Walters, Z. Xu, R. Knight // *FEBS Letters*. - 2014. - № 22 (588). - P. 4223–4233.
182. Promising Treatment for Type 2 Diabetes: Fecal Microbiota Transplantation Reverses Insulin Resistance and Impaired Islets / H. Wang [et al.] // *Frontiers in cellular and infection microbiology*. - 2019. - N9. - P. 455.
183. Gut microbiota and metabolic syndrome / P. –X. Wang [et al.] // *Chinese medical journal*. - 2020. - № 7 (133). - P. 808–816.
184. Long-term cardiometabolic disease risk in women with PCOS: a systematic review and meta-analysis / V. Wekker [et al.] // *Human reproduction update*. - 2020. - № 6 (26). - P. 942–960.

185. Gut microbial indicators of metabolic health underlie age-related differences in obesity and diabetes risk among Native Hawaiians and Pacific Islanders / R. K. Wells [et al.] // *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*. - 2022. - N12.
186. Witchel, S. F. Polycystic Ovary Syndrome: Pathophysiology, Presentation, and Treatment With Emphasis on Adolescent Girls / S. F. Witchel, S. E. Oberfield, A. S. Peña // *Journal of the Endocrine Society*. - 2019. - № 8 (3). - P. 1545–1573.
187. Metformin alters the gut microbiome of individuals with treatment-naive type 2 diabetes, contributing to the therapeutic effects of the drug / H. Wu [et al.] // *Nature Medicine*. - 2017. - № 7 (23). - P. 850–858.
188. Fecal microbiota transplantation reverses insulin resistance in type 2 diabetes: A randomized, controlled, prospective study / Z. Wu [et al.] // *Frontiers in cellular and infection microbiology*. - 2022. - N12. - P. 1089991.
189. Beneficial metabolic effects of a probiotic via butyrate-induced GLP-1 hormone secretion / H. Yadav [et al.] // *The Journal of biological chemistry*. - 2013. - № 35 (288). - P. 25088–25097.
190. Influence of antibiotic use in early childhood on asthma and allergic diseases at age 5 / K. Yamamoto-Hanada [et al.] // *Annals of allergy, asthma & immunology: official publication of the American College of Allergy, Asthma, & Immunology*. - 2017. - № 1 (119). - P. 54–58.
191. Yan, J. *Akkermansia muciniphila*: is it the Holy Grail for ameliorating metabolic diseases? / J. Yan, L. Sheng, H. Li // *Gut microbes*. - 2021. - № 1 (13). - P. 1984104.
192. The Efficacy of 24-Month Metformin for Improving Menses, Hormones, and Metabolic Profiles in Polycystic Ovary Syndrome / P. –K. Yang [et al.] // *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*. - 2018. - № 3 (103). - P. 890–899.
193. Yildirim, B. Relation of intra-abdominal fat distribution to metabolic disorders in nonobese patients with polycystic ovary syndrome / B. Yildirim, N. Sabir, B. Kaleli // *Fertility and sterility*. - 2003. - № 6 (79). - P. 1358–1364.
194. Yucel, A. The association of serum androgens and insulin resistance with fat distribution in polycystic ovary syndrome / A. Yucel, V. Noyan, N. Sagsoz // *European*

- Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology. - 2006. - № 1 (126). - P. 81–86.
195. European Guidelines for Obesity Management in Adults / V. Yumuk [et al.] // Obesity Facts. - 2015. - № 6 (8). - P. 402–424.
196. Yurtdaş, G. A New Approach to Polycystic Ovary Syndrome: The Gut Microbiota / G. Yurtdaş, Y. Akdevelioğlu // Journal of the American College of Nutrition. - 2020. - № 4 (39). - P. 371–382.
197. Chronic Adipose Tissue Inflammation Linking Obesity to Insulin Resistance and Type 2 Diabetes / F. Zatterale [et al.] // Frontiers in Physiology. - 2020. - N10.
198. Diversity of the Gut Microbiota in Dihydrotestosterone-Induced PCOS Rats and the Pharmacologic Effects of Diane-35, Probiotics, and Berberine / F. Zhang [et al.] // Frontiers in Microbiology. - 2019. - N10.
199. Exploration of the Relationship Between Gut Microbiota and Polycystic Ovary Syndrome (PCOS): a Review / X. Zhao [et al.] // Geburtshilfe und Frauenheilkunde. - 2020. - № 2 (80). - P. 161–171.
200. Gut Microbiota Associations with Metabolic Health and Obesity Status in Older Adults / X. Zhong [et al.] // Nutrients. - 2020. - № 8 (12).
201. Metabolic disturbances in non-obese women with polycystic ovary syndrome: a systematic review and meta-analysis / S. Zhu [et al.] // Fertility and sterility. - 2019. - № 1 (111). - P. 168–177.
202. Markers of metabolic health and gut microbiome diversity: findings from two population-based cohort studies / S. Zouïouich [et al.] // Diabetologia. - 2021. - № 8 (64). - P. 1749–1759.
203. Министерство здравоохранения Российской Федерации. Синдром поликистозных яичников. Клинические рекомендации. - М., 2021.
204. ЭНТЕРОФЛОР® Дети НАБОР РЕАГЕНТОВ ДЛЯ ИССЛЕДОВАНИЯ СОСТАВА МИКРОБИОТЫ ТОЛСТОГО КИШЕЧНИКА В ОБРАЗЦАХ КАЛА ДЕТЕЙ МЕТОДОМ ПЦР В РЕЖИМЕ РЕАЛЬНОГО ВРЕМЕНИ // [https://dna-technology.ru/sites/default/files/enteroflor\\_a5.pdf](https://dna-technology.ru/sites/default/files/enteroflor_a5.pdf).